



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

TESIS DE DOCTORADO:

**“ESTUDIO PARASITOLÓGICO Y
POBLACIONAL DE LOS RESERVORIOS
MARSUPIALES (*Didelphis* spp.) DE
Trypanosoma cruzi EN DZIDZILCHÉ,
YUCATÁN, MÉXICO”**

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Presentada por: Hugo Antonio Ruiz Piña

Comité Tutorial:

Dra. Bertha Espinoza-Gutiérrez

Dr. Ricardo López-Wilchis

Dr. Alejandro Cruz-Reyes, director de tesis

México D.F. Septiembre 2007



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.

CONTENIDO

I INTRODUCCIÓN		
I.1 Zoonosis.....	1	
I.2 Importancia y control de las zoonosis.....	3	
I.3 Zoonosis en México.....	3	
I.4 Enfermedad de Chagas.....	5	
I.4.1. Ciclo biológico de <i>Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi</i>	5	
I.4.2. Transmisores de <i>T. (S.) cruzi</i>	6	
I.4.3. Aspectos clínicos de la Enfermedad de Chagas.....	8	
I.4.4. Origen de la Enfermedad de Chagas.....	9	
I.5 Marsupiales del género <i>Didelphis</i>	10	
I.5.1 Taxonomía del género <i>Didelphis</i>	11	
I.5.2 Aspectos ecológicos y biológicos de los tlacuaches.....	11	
II. ANTECEDENTES		
II.1. Huéspedes de <i>T. (S.) cruzi</i>	14	
II.2. Estudios de huéspedes silvestres de <i>T. (S.) cruzi</i> en México.....	15	
III. JUSTIFICACION DEL ESTUDIO.....		19
IV. HIPOTESIS DE TRABAJO.....		19
V. OBJETIVOS		
V.1. Objetivo general.....	19	
V.2. Objetivos específicos.....	20	
VI. AREA DE ESTUDIO		
VI.1 Ubicación geográfica.....	21	
VI.2 Descripción.....	21	
VI.3 Clima y vegetación.....	22	
VII. MATERIALES Y METODOS		
VII.1.Trabajo de Campo		
VII.1.1 Identificación de tlacuaches.....	24	
VII.1.2. Parámetros poblacionales.....	25	
VII.1.3. Localización de madrigueras de tlacuaches.....	30	
VII.2 Trabajo de laboratorio		
VII.2.1. Triatomas en la dieta alimenticia de tlacuaches.....	31	
VII.2.2. Diagnóstico de infección con <i>T. (S.) cruzi</i> en tlacuaches.....	31	
VII.3. Análisis estadísticos.....	34	

VIII. RESULTADOS	
VIII.1. Identidad específica de los tlacuaches.....	35
VIII.2. Parámetros poblacionales de <i>D. virginiana</i>	
VIII.2.1. Captura y recaptura de tlacuaches.....	35
VIII.2.2. Densidad poblacional de <i>D. virginiana</i>	40
VIII.2.3. Características reproductivas de <i>D. virginiana</i>	41
VIII.2.4. Estructura poblacional de <i>D. virginiana</i>	44
VIII.2.5. Madrigueras de tlacuaches y presencia de triatomas.....	45
VIII.2.6. Triatomas en la dieta alimenticia de tlacuaches.....	46
VIII.2.7. Desplazamiento de <i>D. virginiana</i>	46
VIII.3. Prevalencia de infección de <i>D. virginiana</i> con <i>T. (S.) cruzi</i>	
VIII.3.1. Diagnóstico de infección.....	49
VIII.3.2. Infección con <i>T. (S.) cruzi</i> en tlacuaches.....	50
VIII.3.3. Infección con <i>T. (S.) cruzi</i> en triatomas.....	52
VIII.3.4. Amastigotes de <i>T. (S.) cruzi</i> en corazones de <i>D. virginiana</i>	52
IX. DISCUSIÓN	
IX.1. Taxonomía de <i>Didelphis</i>	55
IX.2. Diagnóstico de la infección de <i>D. virginiana</i> con <i>T. (S.) cruzi</i>	56
IX.3. Aspectos poblacionales de <i>D. virginiana</i>	57
IX.4. Transmisión peridomiciliaria de <i>T. (S.) cruzi</i>	64
IX.5. Estacionalidad de la transmisión de <i>T. (S.) cruzi</i>	66
X. CONCLUSIONES.....	69
XI. LITERATURA CITADA.....	72
ANEXOS	
Anexo I. Datos de hembras reproductivas de <i>D. virginiana</i>	82
Anexo II. Condiciones del marsupio de hembras de <i>D. virginiana</i>	83
Anexo III. Relación de tlacuaches con mancha en el pecho-cuello.....	84
Anexo IV. Datos del desplazamiento de <i>D. virginiana</i> en Dzidzilché.....	85

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo Biológico de <i>T. (S.) cruzi</i>	7
Figura 2. Distribución de tlacuaches en México.....	18
Figura 3. Ubicación del área de estudio.....	21
Figura 4. Climograma de Dzidzilché, Yucatán.....	23
Figura 5. Ubicación de las trampas en el área de estudio.....	26
Figura 6. Sistema de perforaciones en orejas para el marcaje de tlacuaches.....	28
Figura 7. Cariotipos de <i>Didelphis</i> y metafases de <i>D. virginiana</i>	36
Figura 8. Fenotipos de <i>Didelphis virginiana</i> en Dzidzilché, Yucatán.....	37
Figura 9. Captura y recaptura de <i>D. virginiana</i>	38
Figura 10. Distribución mensual de tlacuaches en edad reproductiva.....	41
Figura 11. Proporción de sexos en camadas de <i>D. virginiana</i>	43
Figura 12. Grupos de edad de <i>D. virginiana</i> por período de captura.....	44
Figura 13. Composición generacional de <i>D. virginiana</i> en los períodos de captura.....	45
Figura 14. Infección de tlacuaches y triatomas en las estaciones de captura y madrigueras.....	47
Figura 15. Composición orgánica e inorgánica de heces de <i>D. virginiana</i>	48
Figura 16. Distribución mensual de la infección de <i>D. virginiana</i> con <i>T. (S.) cruzi</i>	51
Figura 17 Distribución de la captura e infección con <i>Trypanosoma cruzi</i> en triatomas.....	53
Figura 18. Nidos de amastigotes de <i>T. (S.) cruzi</i> en corazones de tlacuaches y ratones.....	54

LISTADO DE CUADROS

Cuadro 1. Características taxonómicas diagnósticas del género <i>Didelphis</i>	13
Cuadro 2. Miembros del género <i>Didelphis</i> con infección natural con <i>T. (S.) cruzi</i>	15
Cuadro 3. Marsupiales infectados con <i>T. (S.) cruzi</i> en el Continente Americano.....	16
Cuadro 4. Mamíferos silvestres infectados con <i>T. (S.) cruzi</i> en México.....	17
Cuadro 5. Criterios dentales para determinar la edad en tlacuaches.....	28
Cuadro 6. Frecuencia y número de recapturas de <i>D. virginiana</i>	39
Cuadro 7. Distribución de las recapturas de <i>D. virginiana</i>	39
Cuadro 8. Densidad poblacional de <i>D. virginiana</i>	40
Cuadro 9. Tamaño de camada y edad de crías de <i>D. virginiana</i>	42
Cuadro 10. Desplazamiento de <i>D. virginiana</i>	48
Cuadro 11. Comparación de pruebas diagnósticas en tlacuaches.....	49
Cuadro 12. Prevalencia de infección de <i>D. virginiana</i> con <i>T. (S.) cruzi</i>	50
Cuadro 13. Tlacuaches con conversión del diagnóstico de infección.....	51

RESUMEN

En México, la carencia de estudios sobre los mamíferos huéspedes de *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*, ha sido el principal factor por el que en la actualidad, se desconoce el papel que estos vertebrados juegan en los diferentes ciclos de transmisión de este parásito causante de la Enfermedad de Chagas. En el estado de Yucatán, un área endémica de esta enfermedad, confluyen *Didelphis virginiana* y *D. marsupialis* mamíferos marsupiales (tlacuaches) sinantrópicos de gran abundancia en la región. Sin embargo, a pesar de la predominancia de *D. virginiana* en la región, estudios previos sólo habían registrado la infección con *T. (S.) cruzi* en *D. marsupialis*. Para evaluar el papel de estas dos especies de marsupiales en el ciclo de transmisión peridoméstico del parásito, se realizaron nueve períodos de captura-marcaje-recaptura durante el período abril 1996-mayo 1998 en una localidad rural del municipio de Mérida. De cada animal capturado se registró sexo, edad, estado reproductivo, lugar de captura y la infección con *T. (S.) cruzi*. Los tlacuaches fueron identificados mediante la morfología de los cromosomas. Se utilizaron tres métodos diagnósticos de infección de los cuales el xenodiagnóstico fue el más sensible para detectar al parásito. La identidad de *T. (S.) cruzi* fue establecida por la presencia de nidos de amastigotes en músculo cardíaco de ratones Balb/c inoculados con aislados obtenidos de los tlacuaches. De manera paralela a la captura de tlacuaches, se hicieron capturas de triatomas (*Triatoma dimidiata*) en madrigueras de tlacuaches y en viviendas de la localidad; los insectos colectados fueron examinados para la búsqueda de *T. (S.) cruzi*. De 94 tlacuaches estudiados, 92 correspondieron a la especie *D. virginiana* y dos a *D. marsupialis*. De las muestras de sangre de *D. virginiana* 52 (56.5%) fueron positivas a *T.(S.) cruzi*, los dos individuos de *D. marsupialis* fueron negativos. Se encontraron diferencias significativas en los valores de infección en *D. virginiana* entre los diferentes períodos de captura, con valores mayores en los períodos de secas. La estructura poblacional y la condición reproductiva de las hembras, fueron dos parámetros poblacionales de *D. virginiana* que influyeron en sus valores de infección. Ocho de 14 (57.1%) triatomas colectadas en madrigueras peridomésticas de tlacuaches y 32 de 197 (16.3%) capturadas en los domicilios de la localidad, se encontraron infectadas con *T. (S.) cruzi*. Los resultados de este estudio

demonstraron la existencia de un ciclo de transmisión peridoméstico de *T. (S.) cruzi* en Dzidzilché, concentrado en los meses secos del año, principalmente en el período marzo-junio. Esta estacionalidad estuvo dada por la similitud entre los patrones de abundancia y valores de infección con *T. (S.) cruzi* entre tlacuaches y triatomas, la estructura poblacional de los tlacuaches, la actividad reproductiva de las hembras de *D. virginiana* y la preferencia de tlacuaches para colonizar áreas peridomésticas. Este estudio demostró que los aspectos ecológicos de los mamíferos huéspedes de *T. (S.) cruzi* es un requisito indispensable para conocer el comportamiento y dispersión de la infección, que además aportarán información básica para desarrollar programas de control y prevención de la transmisión de esta zoonosis a los humanos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Uno de los grandes retos para el futuro de la humanidad es diseñar estrategias de control de enfermedades que sean armónicas al entorno social, político, económico, cultural y ecológico, en el que se desenvuelven las poblaciones afectadas. Para ejemplificar, las estrategias de control y/o prevención de enfermedades diseñadas para países anglosajones, no pueden ni deben ser aplicadas en países latinoamericanos sin tomar en cuenta los aspectos anteriormente señalados. Aún en un mismo país en cuyo territorio presenta regiones con diferentes características fisiográficas, topográficas, climáticas, vegetacionales, etnográficas, socioeconómicas, etc., es necesario tomar en cuenta esas características si lo que realmente se busca es una mayor eficacia en las estrategias de control y/o prevención de enfermedades, principalmente aquellas de origen zoonótico. La Tripanosomiasis Americana o Enfermedad de Chagas, es una zoonosis que podría estar afectando aproximadamente al 25% de la población latinoamericana. Esta enfermedad no cuenta con una terapéutica efectiva al 100%, no se ha desarrollado ninguna vacuna que pueda ser utilizada en un mediano plazo en seres humanos y en la actualidad, la única manera de controlar su transmisión es a través de campañas de rociamiento con insecticidas para disminuir las poblaciones de los insectos hematófagos vectores. El agente causal de esta enfermedad, el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*, puede afectar a más de 150 especies de mamíferos en el continente Americano, los cuales constituyen sus huéspedes vertebrados de donde los insectos vectores hematófagos (triatomas) adquieren la infección al alimentarse de la sangre de animales infectados. Se han descrito cerca de 30 especies de triatomas en México capaces de actuar como vectores de este parásito. Como es de esperarse, la abundancia y la distribución geográfica, por mencionar algunas, de las especies de vectores y huéspedes de *T. cruzi* en México, varía de acuerdo a las condiciones ecológicas que caracterizan a cada biotopo o bioma que presenta nuestro territorio. Por lo tanto, estas variaciones también determinarán las interrelaciones entre vector, el huésped y el parásito, de la misma forma que afectarán su relación con el ecosistema donde conviven. Visto desde la óptica epidemiológica, el comportamiento o la dinámica de transmisión de la Enfermedad de Chagas, tendrá sus propios rasgos en diferentes regiones del País. Es por ello, en donde radica la importancia de estudiar con detalle aspectos básicos de ecología de las poblaciones animales que participan en los diferentes ciclos de transmisión de *T. cruzi*,

si queremos determinar el impacto de cada uno de ellos en la transmisión a los humanos o que nos permita entender y predecir cómo, cuándo y dónde ocurre la transmisión. Al obtener esta información, es muy probable que tanto los recursos económicos y humanos que pueda destinar el gobierno para atacar esta enfermedad, sean mejor aprovechados en beneficio de las poblaciones que se encuentran en riesgo de ser afectados por la Enfermedad de Chagas.

I. INTRODUCCIÓN

I.1 Zoonosis

La mayoría de las enfermedades que actualmente afectan a los humanos, tuvieron su origen en infecciones que en el pasado fueron de circulación exclusiva de áreas silvestres. El crecimiento descontrolado de la población humana trajo como consecuencia el establecimiento de viviendas en hábitats silvestres vírgenes, de manera que el contacto con infecciones de animales silvestres se fue incrementando, paulatina e irreversiblemente en el entorno humano. De esta manera, muchas infecciones originalmente exclusivas de animales silvestres se diseminaron y se establecieron en las poblaciones humanas. A estas enfermedades o infecciones que son transmitidas en forma natural directa o indirectamente entre animales vertebrados y humanos, son denominadas zoonosis (WHO, 1959). Las zoonosis afectan prácticamente a todo el mundo y representan una importante amenaza para la salud de la población humana, por lo que son consideradas prioritarias para su estudio por diversas organizaciones como la Organización Panamericana de la Salud y la Organización Mundial de la Salud (Meslin, 1997). Hasta la fecha, se han descrito cerca de 200 enfermedades zoonóticas y, aunque su distribución es a nivel mundial, afectan en mayor grado a países pobres y a los que están en vías de desarrollo, donde los sistemas de salud, control y vigilancia de las enfermedades humanas, carecen de la infraestructura básica para afrontar esta problemática (WHO, 1979).

Las zoonosis pueden ser transmitidas de muy diversas maneras, ya sea por medio de artrópodos vectores, por contacto directo, por la ingestión de alimentos y agua, o por vía aérea. De acuerdo al ecosistema donde se presentan, las zoonosis pueden ser denominadas como zoonosis sinantrópicas, esto es, presentan un ciclo de transmisión urbano o doméstico donde los animales domésticos y silvestres que frecuentan la vivienda humana (sinantrópicos) representan la fuente de infección. Por el contrario, las zoonosis exoantrópicas presentan ciclos de transmisión silvestre o ferales en áreas geográficas bien definidas (focos naturales) y la fuente de infección proviene de animales

silvestres (Hubálek, 2003). No obstante, algunas zoonosis como la Fiebre Amarilla y la Enfermedad de Chagas, se caracterizan por presentar ambos ciclos de transmisión o de circulación del agente zoonótico. Tomando en cuenta el agente causal, las zoonosis también son clasificadas como parasitarias, virales, micóticas y bacterianas (Acha y Cifres, 1986). Entre las zoonosis de mayor impacto en la salud pública se encuentra aquellas causadas por parásitos, lo que explica el hecho de que de las 10 enfermedades actualmente prioritarias para la OMS, siete son causadas por parásitos (Oncocercosis, Filariasis Linfática, Esquistosomiasis, Malaria, Leishmaniasis, Tripanosomiasis Africana y la Tripanosomiasis Americana o Enfermedad de Chagas). Estas enfermedades parasitarias, además de la morbilidad y mortalidad que presentan, incluyen muchas infecciones humanas de amplia distribución geográfica, y que además de su impacto en la salud humana, ocasionan grandes pérdidas económicas al afectar a animales de producción, ocasionando el desperdicio de carne, leche y otros alimentos de origen animal (OMS, 1979).

Históricamente, el estudio de las zoonosis estuvo inicialmente enfocado al entorno doméstico/peridoméstico, sin embargo, durante las últimas cinco décadas se ha hecho cada vez más evidente la importancia de los animales silvestres en el mantenimiento y transmisión de agentes zoonóticos a los humanos (Abdussalam, 1959; Jonson, 1970; Malean, 1991; Daszak, 2001). En la gran mayoría de las zoonosis transmitidas por artrópodos que presentan ciclos de transmisión silvestre, los mamíferos constituyen los principales huéspedes que mantienen la circulación de sus agentes etiológicos. La importancia de estos animales en el ciclo de transmisión zoonótico depende, entre otros aspectos, de la interrelación de diversos factores biológicos y/o ecológicos, entre ellos, la dinámica poblacional de los animales, tiene un papel determinante en el establecimiento de ciclos de transmisión de zoonosis (WHO, 1979). Aquellos huéspedes vertebrados que actúan como fuente natural de infección para los insectos vectores y que presentan las características biológicas y ecológicas para mantener y propagar la infección en la naturaleza,

son denominados reservorios (WHO, 1979). Por lo tanto, el conocimiento biológico y ecológico de los huéspedes silvestres de agentes zoonóticos, son requisitos indispensables para la evaluación de su papel como reservorios de parásitos de importancia en salud pública (WHO, 1991).

I.2 Importancia y control de las zoonosis

A nivel mundial, las investigaciones enfocadas para el control de las zoonosis están basadas en el desarrollo de mejores métodos diagnósticos, búsqueda de nuevos fármacos mas efectivos y con menores efectos colaterales, en el desarrollo de insecticidas residuales de mayor eficacia para los agentes vectores, campañas de fumigación para disminuir las poblaciones peridomésticas de los insectos vectores, desarrollo de vacunas de tercera generación utilizando el Acido Desoxiribonucleico (ADN), entre otras. Sin embargo, el control de una enfermedad zoonótica implica, en términos generales, la disminución del riesgo de transmisión de la infección a la población humana, sin embargo, hay que tener muy en cuenta que los agentes infecciosos aún permanecen en las poblaciones de animales silvestres. Por lo tanto, algún descuido en la medidas de control, o de algún cambio climático inesperado que modifique las biocenosis ya establecidas (p. ej. huracanes), implicaría un nuevo riesgo para la propagación de la enfermedad a los humanos. Por lo tanto, el estudio de los huéspedes silvestres (vertebrados e invertebrados) de las zoonosis representa un requisito esencial para el conocimiento, monitoreo y control de las enfermedades zoonóticas.

I.3 Zoonosis en México

En México, se desconoce el número de zoonosis presentes en el ámbito silvestres. De acuerdo con la Secretaría de Salud, las enfermedades zoonóticas que mas afectan a los mexicanos son la Leptospirosis, la Brucelosis y la Rabia, las cuales presentan mayor prevalencia en poblaciones rurales con servicios de salud muy deficientes o que prácticamente carecen de ellos (Boletín Epidemiológico SSA, 2003). La Secretaría de Salud (SSA), en los boletines

periódicos que publica, ha agrupado en tres categorías las zoonosis que afectan a los mexicanos: a) enfermedades transmitidas por vector (incluye al paludismo y al dengue en su forma clásica y hemorrágica), b) enfermedades infecciosas y parasitarias (que incluye a zoonosis causadas por bacterias como la salmonelosis; por parásitos y protozoarios intestinales, como la teniasis y la amebiasis) y, c) las enfermedades zoonóticas. En esta última categoría, están incluidas solamente la Rabia, Brucelosis, Leptospirosis.

Sin embargo, en el País existen otras infecciones zoonóticas transmitidas por vector como la Malaria, la Oncocercosis, la Leishmaniasis y la Enfermedad de Chagas, que afectan a los mexicanos que viven en áreas rurales, principalmente del sur y sureste del País (Chiapas, Oaxaca, Veracruz, Quintana Roo, entre otros). En una publicación reciente, la Organización Panamericana de la Salud (OPS, 2002) señaló que la incidencia y la mortalidad de la mayoría de estas enfermedades han ido disminuyendo en los últimos años gracias a las campañas de control (como la fumigación con insecticidas en el caso de la Malaria). Sin embargo, otras enfermedades como la Enfermedad de Chagas, ha mostrado un aumento en la aparición de nuevos casos, principalmente en Veracruz, donde la incidencia en el año 2000 fluctuó entre 1 a 20 casos por cada 1000 habitantes (OPS, 2002). La importancia de la Enfermedad de Chagas, y de algunas otras zoonosis, en el ámbito de la salud pública de México, aún no está bien definida por la falta de estudios integrales que hagan evidente su problemática real y el impacto sobre la población humana. Por ello, para la mayoría de las zoonosis presentes en el País, no existen programas de control específicos, a excepción de las campañas de fumigación para la Malaria y el Dengue. No obstante, la Enfermedad de Chagas ha sido incluida, aunque de manera ocasional, desde la semana 7 del 2003 en los reportes oficiales de la SSA. Dicha zoonosis, de acuerdo con la norma oficial NOM-003-SSA2-1993, está incluida entre las infecciones que se monitorean rutinariamente en los bancos de sangre del sistema de salud oficial (Diario Oficial de la Federación, 1994).

I.4 Enfermedad de Chagas

La Tripanosomiasis Americana es una zoonosis descrita en 1909 por el científico brasileño Carlos Chagas quien descubrió los primeros casos en Minas Gerais, Brasil (Chagas, 1909). En reconocimiento a su importante hallazgo, esta patología fue reconocida como Enfermedad de Chagas. Esta zoonosis es de distribución exclusiva del continente Americano donde, según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud, afecta a 20 millones de personas, causa la muerte a más de 45 mil personas al año y 90 millones de humanos se encuentran en riesgo de contraer la infección. Las pérdidas económicas calculadas para el continente Americano debido a esta patología son de 6,500 millones de dólares (WHO, 1996).

La Enfermedad de Chagas es causada por el protozooario intracelular, *Trypanosoma cruzi*. Este parásito pertenece al orden Kinetoplastida, familia Trypanosomatidae, que incluye a organismos flagelares que poseen cinetoplasto, organelo localizado en la mitocondria de la célula y que está compuesto de una red filamentosa de Acido Desoxirribonucleico (ADN). En su publicación original Chagas (1909) nombró a este tripanosoma como *Schizotrypanum cruzi*, por lo que el nombre científico correcto de este parásito es *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*. Sin embargo, por razones prácticas en el resto de la tesis se nombrará a este parásito como *Trypanosoma cruzi* o *T. cruzi*.

I.4.1 Ciclo Biológico de *Trypanosoma cruzi*

El ciclo de vida *T. cruzi* incluye su paso por un huésped invertebrado y un huésped vertebrado, con formas de desarrollo características de cada huésped (Figura 1). La forma de tripomastigote, de 20 a 25 micras de longitud, es la forma presente en los huéspedes vertebrados que se desplaza en el torrente sanguíneo por medio de su membrana ondulante para invadir los tejidos. En el interior de los tejidos del vertebrado, el parásito se multiplica por fisión binaria bajo la forma de amastigote que mide de 2 a 3.5 micras de diámetro y que carece de membrana y flagelo. La multiplicación intracelular de *T. cruzi* induce la lisis

de las células parasitadas, lo cual produce la transformación y liberación de los parásitos al torrente sanguíneo como tripomastigotes circulantes, de donde son ingeridos por insectos hematófagos de la familia Reduviidae, que constituyen los huéspedes invertebrados de *T. cruzi*. En estos huéspedes, los tripomastigotes se transforman en epimastigotes, forma elongada de 25-30 micras de largo. Los epimastigotes se multiplican por fisión binaria en la parte media del intestino de estos insectos y se transforman a tripomastigotes metacíclicos (formas infectantes) durante su paso al intestino posterior o recto, de donde son expulsados con las evacuaciones de heces o de orina.

I.4.2 Transmisores de *Trypanosoma cruzi*

Los transmisores naturales y huéspedes invertebrados de *T. cruzi*, son los insectos hematófagos de la familia Reduviidae, subfamilia Triatominae (triatomas). Esta familia incluye mas de 100 especies y 14 géneros de triatomas, siendo *Triatoma*, *Rhodnius* y *Panstongylus*, los tres géneros de mayor importancia epidemiológica (WHO, 1991). Mas de la mitad de las especies de triatomas (66), han sido encontrados con infección natural con *T. cruzi*, de las cuales sobresalen *P. megistus*, *T. infestans*, *T. brasiliensis*, *T. sordida*, *R. prolixus*, *R. pallescens* y *T. dimidiata*, debido a su distribución geográfica, asociación con el domicilio y peridomicilio humano, y a que presentan características ecológicas y biológicas que favorecen su capacidad como principales transmisoras de *T. cruzi* (WHO, 1991; Zeledón y Rabinovich, 1981).

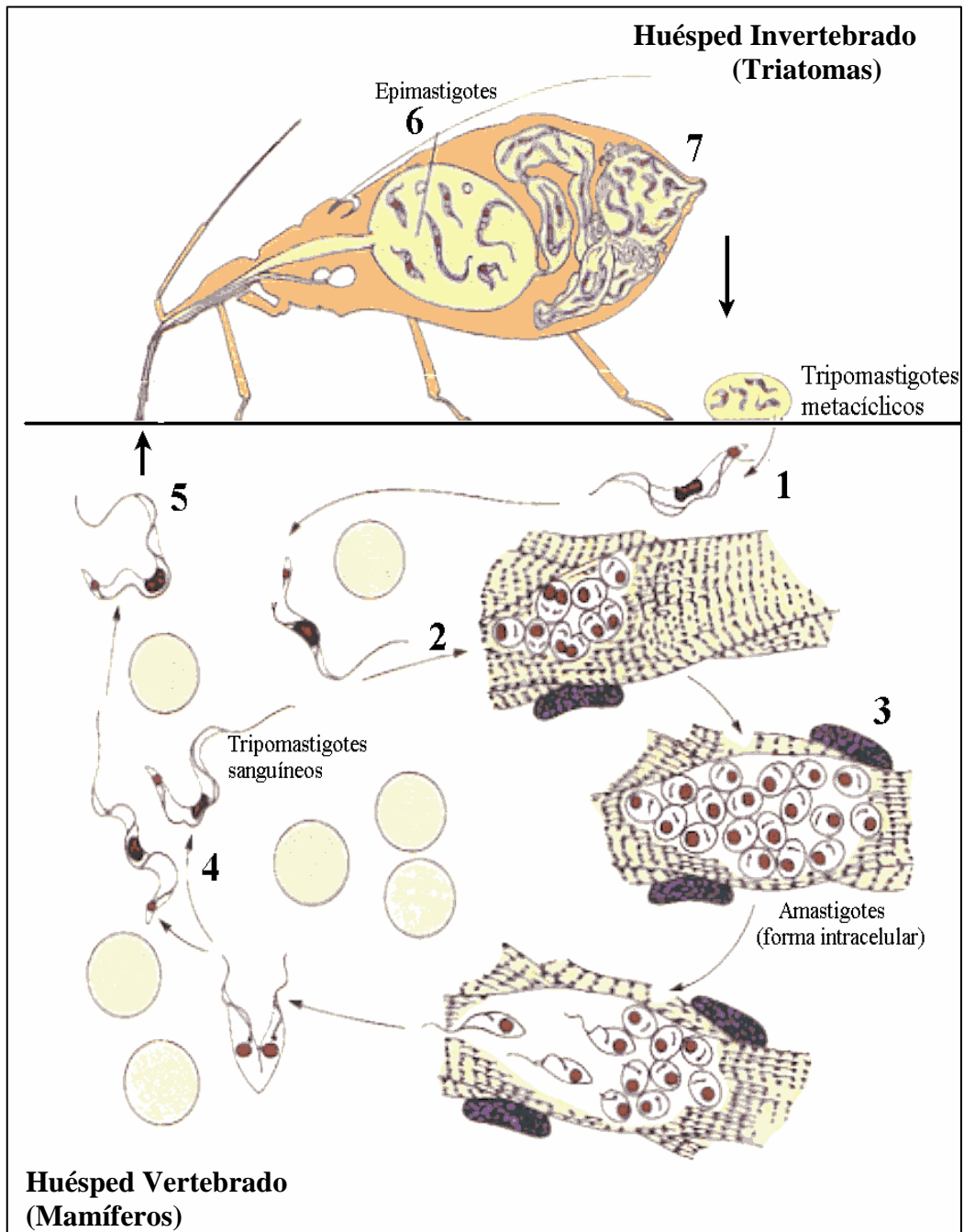


Figura 1. Ciclo biológico de *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*. **1)** Entrada del parásito al huésped vertebrado por contaminación de heces de triatomas infectadas, **2)** invasión intracelular del parásito, **3)** multiplicación intracelular del parásito, **4)** transformación a tripomastigotes y salida al torrente sanguíneo, **5)** ingesta de tripomastigotes sanguíneos por alimentación del insecto vector, **6)** transformación a epimastigotes y multiplicación en la parte media del intestino del vector, **7)** eliminación de tripomastigotes metacíclicos en la heces del insecto durante o después de su alimentación. Modificado de Peters y Gilles. 1999 (p. 43).

Durante su alimentación sanguínea, los triatomas generalmente defecan sobre su huésped vertebrado, eliminando de esta manera los tripomastigotes metacíclicos, que constituyen la forma infectante de *T. cruzi*. La comezón que produce el piquete del insecto induce a un rascado intenso que provoca la autoinoculación del parásito por la rotura de vasos capilares (Chagoma de inoculación), y también mediante la autoinoculación con heces infectadas en las mucosas de los ojos debido al contacto con dedos contaminados después del rascado (signo de Romaña). Los triatomas emergen de un huevo fertilizado, pasando por cinco estadios ninfales después de los cuales emerge el adulto. La duración de este ciclo varía entre las diferentes especies, desde cinco meses para *R. prolixus* y *T. infestans*, hasta un año o más para *T. dimidiata*, *P. megistus*, *T. sordida* y *T. brasiliensis* (Zeledón, 1974). Todos los estadios ninfales tienen la capacidad para transmitir a *T. cruzi*, aunque varios estudios señalan al 5° estadio como el más eficiente, incluso más que los adultos (WHO, 1990). No existe la transmisión transovárica entre los triatomas, por lo que los triatomas adquieren la infección de los huéspedes mamíferos infectados.

I.4.3 Principales aspectos clínicos de la Enfermedad de Chagas

La evolución clínica de la Enfermedad de Chagas puede ser dividida en tres fases (WHO, 1991; Brener and Krettli, 1990). La fase inicial o aguda, es de corta duración (de uno a dos meses), en la cual podría presentarse una señal de puerta de entrada del parásito, ya sea en la conjuntiva ocular (Signo de Romaña) o en la piel (Chagoma de inoculación). Los signos clínicos pueden consistir en fiebre, edema, linfadenopatía generalizada, alteraciones electrocardiográficas y dilatación del corazón, aunque, algunas personas pueden cursar esta fase asintómicamente (casos inaparentes). Estas manifestaciones disminuyen gradualmente y los síntomas desaparecen en poco tiempo (2-3 meses). En esta fase la parasitemia es evidente, de manera que la infección puede detectarse fácilmente en muestras sanguíneas y por pruebas serológicas. La fase aguda es seguida por una fase crónica de larga duración en la cual los parásitos son escasos en sangre periférica y el diagnóstico puede realizarse por hemocultivo y

por xenodiagnósticos. La fase crónica puede manifestarse en diversas formas; la forma cardíaca afecta al 30-40% donde puede ocurrir la muerte súbita, y la forma gastrointestinal, que se presenta en el 10% de los pacientes, cuyas anormalidades pueden ser desde leves cambios en la motilidad del intestino hasta una severa dilatación del esófago y colon. La fase indeterminada de la infección agrupa a la mayoría de los casos crónicos, y se caracteriza por la ausencia de signos clínicos. Sin embargo, después de cinco a diez años las consecuencias de esta enfermedad son irreversibles y mortales; la mayoría de los enfermos mueren por alteraciones cardíacas o por obstrucción del tracto digestivo (megaesófago, megacolon).

I.4.4. Origen de la Enfermedad de Chagas

Originalmente la transmisión de *T. cruzi* ocurría exclusivamente entre triatomas y mamíferos silvestres, es decir, era una enzootia. Debido al aumento descontrolado de la población humana y a la creciente necesidad de viviendas y áreas para cultivo, muchos hábitats silvestres fueron invadidos por el hombre creando así asentamientos humanos irregulares en zonas enzoóticas de la infección. De esta manera, el hombre se introdujo en el ciclo de transmisión de *T. cruzi*, y como consecuencia, a la adquisición de la Tripanosomiasis Americana.

La invasión de los humanos hacia áreas silvestres trajo consigo dos nuevos ecotopos para los insectos vectores y mamíferos reservorios de *T. cruzi*; la vivienda y el peridomicilio humano. Actualmente, algunos vectores como *Triatoma infestans* y *Rhodnius prolixus*, entre otros, se han adaptado completamente al domicilio humano y algunas otras, como *T. dimidiata*, aún se encuentran en proceso de domiciliación (Zeledón y Rabinovich, 1981). Los triatomas se presentan con mayor frecuencia en áreas rurales con pobres condiciones socioeconómicas y sanitarias, invadiendo viviendas con paredes de barro o adobe con palos y techos de palma, condiciones que les proveen microecotopos favorables para la colonización de la vivienda (WHO, 1979).

Entre los reservorios silvestres de *T. cruzi*, los tlacuaches del género *Didelphis* son los mamíferos que más se han adaptado al entorno humano, al grado que gran parte de su éxito evolutivo está ligado a su estrecha convivencia con los humanos (Austad, 1988). Los animales sinantrópicos, aquellos que frecuentan los alrededores de las viviendas ya sean urbanas o rurales, juegan un papel esencial en la epidemiología de la mayoría de las zoonosis, al mantener la infección en el peridomicilio (WHO, 1979). El mejor ejemplo de animales sinantrópicos en el continente Americano, son los tlacuaches del género *Didelphis*.

I.5 Marsupiales del género *Didelphis*

Los marsupiales divergieron del resto de los mamíferos hace aproximadamente 100 millones de años; el fósil marsupial más antiguo fue encontrado en Canadá por lo que se piensa que tuvieron su origen en Norteamérica. La familia Didelphimorphia incluye a todos los marsupiales americanos y posee cerca de 70 especies. Esta familia consta de 11 géneros y 77 especies, de los cuales el género *Didelphis* es por mucho el género de mayor distribución en el mundo (Novak, 1991; Austad, 1988). A partir de un fósil encontrado en Sudamérica se estima que el género *Didelphis* tiene una antigüedad de cuatro millones de años.

Los miembros del género *Didelphis* (tlacuaches) son mamíferos primitivos con una distribución geográfica que comprende desde el sureste de Canadá hasta la región central de Argentina, dentro de un rango de altitud que abarca desde el nivel del mar hasta los 3000 msnm (Gardner, 1973). Este género comprende tres especies: *Didelphis virginiana*, especie con distribución en hábitats tropicales, subtropicales y templados desde Norteamérica, sur de Canadá hasta Nicaragua y Costa Rica; *D. marsupialis*, especie de afinidad tropical que se distribuye desde el sur de Tamaulipas en México, hasta el norte de Argentina, y *D. albiventris* especie que se presenta en hábitats subtropicales y templados con una distribución restringida a Sudamérica (Gardner, 1973).

I.5.1 Taxonomía del género *Didelphis*.

De los miembros de este género, *D. virginiana* es la especie mas recientemente descrita, la cual se separó de su especie ancestral, *D. marsupialis*, hace aproximadamente 75,000 años (Gardner, 1973). El aislamiento de algunas poblaciones de *D. marsupialis* en las tierras bajas de México durante las glaciaciones pleistocénicas, provocaron importantes rearrreglos cromosómicos que dieron origen a un cariotipo único entre marsupiales americanos y que interrumpieron el flujo génico intrapoblacional; este nuevo cariotipo pudo facilitar a esta especie incipiente la adaptación a los climas fríos y posteriormente ser capaz de dispersarse hacia el norte. Las diferencias en la morfología de los cromosomas de *D. virginiana* es única entre los didélfidos y que se podrían expresar en diferencias fisiológicas y bioquímicas (Austad, 1988; Gardner, 1973).

A partir del estudio de Gardner (1973), se reconocen tres especies de tlacuaches; *D. virginiana*, *D. marsupialis* y *D. albiventris*. Este autor estudió una serie de caracteres taxonómicos en casi 3 mil ejemplares depositados en colecciones de los Estados Unidos, principalmente en aquellos provenientes de poblaciones simpátricas de *D. marsupialis* de *D. virginiana* en México y Centroamérica. Como resultado de su investigación, Gardner (1973) estableció caracteres diagnósticos para cada especie, que incluyen la morfología cromosómica, morfología de algunos huesos del cráneo, el patrón de coloración del pelaje y aspectos conductuales (Cuadro 1). En la práctica, el patrón de coloración del pelaje y la morfología craneal, son los caracteres taxonómicos mas utilizados por los mastozoólogos para identificar tlacuaches del género *Didelphis*, tanto en el campo como en material de colecciones científicas.

I.5.2 Principales aspectos ecológicos y biológicos de los tlacuaches

Los tlacuaches son animales nocturnos de hábitos semi-arbóreos que en el día permanecen en refugios o madrigueras abandonadas de otras especies o en

cualquier agujero que les proporcione protección como huecos de árboles, montículos de piedras o en lo alto de árboles como las palmeras. Estos mamíferos utilizan una gran variedad de hábitats, desde áreas desérticas hasta tropicales y montañosas. Su dentadura generalizada les permite alimentarse de una gran variedad de alimentos que van desde insectos y lombrices hasta frutas y pequeños mamíferos (Tyndale-Biscoe, 1975). En el entorno humano, las aves de corral y sus huevos, así como diversas frutas como la papaya y el zapote son parte importante de su dieta en zonas tropicales de México (Leopold, 1977). Estos mamíferos, se caracterizan por ser nómadas y solitarios, no son territoriales ni sociales, y sólo se les encuentra en parejas en la época de reproducción; sus ámbitos hogareños individuales varían ampliamente y se traslapan continuamente. La longevidad en su hábitat natural se ha calculado de uno a cuatro años (Petrides, 1949). Aunque las aves de rapiña son los principales depredadores naturales de los tlacuaches, la mortalidad por depredación no es un factor importante que altere su población, en parte por su sabor desagradable y su comportamiento de fingirse el muerto (Fitch y Shirer, 1970). Sin embargo, existe una elevada mortalidad en la edad juvenil debida a la competencia intraespecífica (Tyndale-Biscoe, 1975). En países sudamericanos como Argentina, la mayor tasa de mortalidad de estos animales ocurre en el peridomicilio humano, ya sea por depredación humana o por los perros que se acostumbran tener en los patios de las viviendas (Wisnivesky-Colli *et al.*, 1992).

Los tlacuaches presentan un tiempo de gestación muy corto el cual generalmente tiene una duración de 13 días. Al término de la gestación, los neonatos emergen de la pseudovagina aún en estado embrionario para dirigirse a las tetas presentes en la bolsa marsupial o marsupio, localizada en el vientre de las hembras. El marsupio presenta 13 tetas y tiene la capacidad para albergar igual número de crías, sin embargo, debido a que algunas no logran alcanzar las tetas y, a que éstas no siempre son funcionales (productoras de leche), el número promedio de crías por camada puede variar de 5 a 11 (Reynolds, 1952).

Las crías se mantienen adheridos a las tetas de la madre por un lapso de 30 días y completan su desarrollo después de aproximadamente 90 días, tiempo en el

Cuadro 1. Principales características diagnósticas para diferenciar *D. marsupialis* y *D. virginiana* en zonas simpátricas de su distribución (Gardner, 1973).

Caracteres	<i>D. marsupialis</i>	<i>D. virginiana</i>
Taxonómicos		
Cromosomas	10 pares acrocéntricos	6 pares subtelocéntricos y 4 pares acrocéntricos
Cráneo*:		
a) S. L-F	a) arqueada medialmente	a) no arqueada medialmente
b) C. N-L	b) sí	b) no
c) H.N.	c) angostos, extremos anteriores en ángulo agudo	c) anchos, extremos anteriores redondeados o truncados
d) P.I.O.	d) angosta	d) ancha
Coloración y pelaje:		
a) Cachete	a) amarillo-anaranjado	a) blanco-pálido
b) Pelo cola	b) amplia y "rasurada"	b) angosta y peluda
Conducta	Agresivo, enrolla la cola y finge estar muerto (tanatosis)	Menos agresivo, no enrolla la cola y rara vez finge estar muerto (tanatosis)

*Abreviaturas: S.L-F, sutura lacrimo-frontal; C.N-L, contacto entre los huesos nasales y lagrimales; H.N., huesos nasales; P.I.O., pared interna de la órbita.

cual alcanzan su independencia. Una vez que las hembras han destetado a sus crías, éstas tienen la capacidad de producir una nueva camada si se aparean inmediatamente. La remoción de las crías de la bolsa tiene como consecuencia el retorno al estro de 5 a 7 días después (Renfree, 1974). Si se da un nuevo apareamiento, se inicia la fase lútea del ciclo la cual dura de 12 a 13 días (McCrary, 1938).

Los tlacuaches alcanzan la madurez sexual aproximadamente a los seis meses de edad, generalmente antes de alcanzar un gran tamaño (Petrides, 1949). La

época de reproducción de los tlacuaches presenta algunas diferencias geográficas y es influenciada marcadamente por las condiciones climáticas. En áreas con clima frío, como gran parte de los Estados Unidos de Norteamérica, la reproducción de *D. virginiana* es marcadamente estacional y se concentra desde enero hasta julio con picos de actividad en los períodos enero-marzo y mayo-julio, generalmente sólo tienen una camada al año y en algunas áreas del sur presentan dos camadas anuales (McManus, 1970). En regiones con clima tropical como Panamá, la reproducción de *D. marsupialis* es estacional, sin embargo, este tipo de clima le permite mayor flexibilidad en su actividad reproductiva y un mayor número de camadas, llegando a alcanzar hasta tres camadas anuales (Fleming, 1973).

II. ANTECEDENTES

II.1. Huéspedes de *Trypanosoma cruzi*

Desde el hallazgo de *T. cruzi* en un gato (Chagas, 1909), en la actualidad la infección con este parásito se ha registrado en más de 150 especies de mamíferos que representan los órdenes Marsupialia, Edentata, Chiroptera, Carnivora, Lagomorpha, Rodentia y Primates. De esta lista, destacan los marsupiales miembros del género *Didelphis*, principalmente *D. marsupialis* por la elevada prevalencia de infección que se ha encontrado en diversos estudios realizados en varios países del continente Americano, y que en algunos alcanza más del 90% (Cuadro 2).

Cuadro 2. Relación de hallazgos de infección natural con *Trypanosoma cruzi* en tlacuaches del género *Didelphis* en el Continente Americano

Especie	% Infección	País	Referencias
<i>D. marsupialis</i>	8.3	Belice	Petana, 1969
	14-72	Colombia	Travi <i>et al.</i> , 1994
	25	Venezuela	Herrera y Urdaneta, 1992,
	29-50	Argentina	Schweigmann, 1994;
	69.2, >90	Brasil	Steindel <i>et al.</i> , 1987; Alencar <i>et al.</i> , 1981;
	67.3	Costa Rica	Zeledón <i>et al.</i> , 1970
<i>D. albiventris</i>	15.4	México	Zavala <i>et al.</i> , 1996
	32	Argentina	Wisnivesky-Colli <i>et al.</i> , 1992;
<i>D. virginiana</i>	36.7	Brasil	Fernandes <i>et al.</i> , 1989
	8.3-33.3	Estados Unidos	Pung <i>et al.</i> , 1995; Karsten <i>et al.</i> , 1992; Barr <i>et al.</i> , 1991
	16.6	México	Solís-Franco <i>et al.</i> , 1997

El primer hallazgo de infección natural con *T. cruzi* en tlacuaches, fue reportado para *D. marsupialis* en Honduras (Robertson, 1929). En la actualidad, por lo menos 18 especies de marsupiales se han encontrado infectados en forma natural en el Continente Americano (Barreto, 1985) (Cuadro 3).

II.2. Estudios de huéspedes silvestres de *Trypanosoma cruzi* en México

En la República Mexicana, desde 1949 se tiene conocimiento de la infección por *T. cruzi* en *D. marsupialis* y otros mamíferos silvestres y domésticos (Mazzotti y Días, 1949). Sin embargo, ha sido tan poco el avance en el estudio de los reservorios de este parásito, que después de mas de 50 años de investigación sobre la Enfermedad de Chagas en nuestro País, la infección natural con *T. cruzi*, solamente se ha registrado en 12 especies de mamíferos silvestres (Cuadro 4).

Cuadro 3. Marsupiales (Marsupialia:Didelphimorphia) con infección natural con *Trypanosoma cruzi* en el Continente Americano

Especies	Países
<i>Caluromys derbianus</i>	Costa Rica, Panamá
<i>C. lanatus</i>	Brasil, Venezuela
<i>C. philander</i>	Guyanas Francesas, Venezuela
<i>Didelphis albiventris</i>	Argentina, Bolivia, Brasil, Uruguay
<i>D. marsupialis</i>	Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, Guatemala, Guyanas Francesas, Honduras, México, Panamá, Venezuela
<i>D. virginiana</i>	Estados Unidos, México
<i>Lutreolina crassicaudata</i>	Argentina, Brasil
<i>Marmosa agilis</i>	Brasil
<i>M. alstoni</i>	Costa Rica
<i>M. elegans</i>	Argentina, Brasil
<i>M. microtarsus</i>	Brasil
<i>M. murina</i>	Colombia
<i>M. pusilia</i>	Argentina
<i>M. robinsoni</i>	Venezuela
<i>Metachirus nudicaudatus</i>	Brasil
<i>Monodelphis brevicaudata</i>	Venezuela
<i>M. domestica</i>	Brasil
<i>Philander opossum</i>	Brasil, Colombia, Costa Rica, Panamá, México

Fuente: WHO (1991)

Con relación a los tlacuaches, la infección en *D. virginiana* sólo había sido reportada en Chiapas y Veracruz (Domínguez-Vázquez *et al.*, 1990; Solís-Franco, *et al.*, 1997; Cañeda, 1997). En México, *D. virginiana* y *D. marsupialis*, presentan diferencias en su distribución geográfica, siendo la primera especie la de mayor distribución en el territorio mexicano; las poblaciones de estas dos especies se sobrelapan o son simpátricas, desde la costa del Golfo de México, abarcando Chiapas, Oaxaca, Veracruz, Tabasco y la Península de Yucatán (Figura 2).

En el único estudio sobre reservorios de *T. cruzi* que se ha realizado en el estado de Yucatán, se encontró una prevalencia de infección de 15.4% en *D. marsupialis* (Zavala *et al.*, 1996). Sin embargo, llama la atención que en ese estudio, los autores no reportaron la captura de *D. virginiana* a pesar de que

existen evidencias de que esta especie presenta una mayor abundancia en el norte de la Península, particularmente, en el estado de Yucatán (Birney *et al.*, 1974; Jones *et al.*, 1974).

Cuadro 4. Lista de especies de mamíferos silvestres infectados con *Trypanosoma cruzi* en México.

ESPECIES	NOMBRE COMÚN	ESTADO	REFERENCIAS
Orden Didelphimorphia			
Familia Didelphidae			
<i>Didelphis marsupialis</i>	Tlacuache, zarigüeya	Yucatán, Nuevo León, Michoacán	Zavala <i>et al.</i> , 1996; Aguirre-Pequeño, 1947; Dias <i>et al.</i> , 1947
<i>D. virginiana</i>	Tlacuache, zarigüeya	Chiapas	Solís-Franco <i>et al.</i> , 1997
<i>Philander opossum</i>	Cuatro ojos		Cañeda, 1997
Orden Xenarthra			
Familia Dasypodidae			
<i>Dasypos novemcinctus</i>	Armadillo	Colima, Guerrero	Mazzotti, 1940
Orden Chiroptera			
Familia Phyllostomidae			
<i>Carollia perspicillata</i>	Murciélago	Chiapas	Zárate y Zárate, 1984, 1985 In: Domínguez y Espinoza, 1988.
Orden Rodentia			
Familia Sciuridae			
<i>Sciurus sp.</i>	Ardilla	Jalisco, Oaxaca	Tay <i>et al.</i> , 1969; Salazar <i>et al.</i> , 1987
Familia Heteromyidae			
<i>Heteromys desmarestianus</i>	Ratón Silvestre	Chiapas	Solís-Franco <i>et al.</i> , 1997
Familia Muridae			
<i>Neotoma micropus</i>	Rata de Campo	Nuevo León	Galavíz-Silva y Arredondo-Cantú, 1992
<i>Otodylomys phyllotis</i>	Ratón Silvestre	Chiapas	Zárate y Zárate, 1984, 1985 In: Domínguez y Espinoza, 1988.
<i>Peromyscus aztecus</i>	Ratón Silvestre	Chiapas	Zárate y Zárate, 1984, 1985 In: Domínguez y Espinoza, 1988.
<i>P. mexicanus</i>	Ratón Silvestre	Chiapas	Solís-Franco <i>et al.</i> , 1997
<i>Sigmodon hispidus</i>	Ratón Silvestre	Chiapas	Zárate y Zárate, 1984, 1985 In: Domínguez y Espinoza, 1988.
<i>Tylomys nudicaudus</i>	Ratón Silvestre	Chiapas	Zárate y Zárate, 1984, 1985 In: Domínguez y Espinoza, 1988.

Fuente bibliográfica: Tay *et al.*, 1969; Salazar *et al.*, 1987; Domínguez-Vázquez *et al.*, 1990



Figura 2. Distribución de los tlacuaches en México resaltando su zona de simpatría que incluye a la Península de Yucatán.

El estado de Yucatán es una de las zonas del país donde más casos de Enfermedad de Chagas se han registrado (Tay *et al.*, 1992). En estudios previos realizados en la región, se ha encontrado reactividad serológica a *T. cruzi* en humanos (11.20%), además del hallazgo de casos humanos en fase aguda y crónica (Barrera *et al.*, 1990; Zavala *et al.*, 1975 y 1985). Los estudios realizados con *Triatoma dimidiata*, el insecto vector más importante en el estado de Yucatán, han demostrado su capacidad como transmisor de *T. cruzi*, así como su capacidad de colonizar viviendas del Estado (Zavala *et al.*, 1974; Pinzón *et al.*, 1976; Guzmán *et al.*, 1992; Ruiz y Escobedo, 1990). Además, entre otros mamíferos, se ha comprobado que este insecto se alimenta con sangre de *D. marsupialis* en las localidades de Peto e Izamal (Quintal y Polanco, 1977). De acuerdo con los resultados obtenidos en estos estudios, el municipio de Mérida, entre otros localizados en el área henequenera del estado de Yucatán, presenta condiciones epidemiológicas que favorecen la transmisión de *T. cruzi* (Zavala, 2003).

III. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La importancia de los estudios ecológicos de los huéspedes mamíferos de *T. cruzi*, ha sido señalada por la Organización Mundial de la Salud desde hace más de una década, para definir el papel de estos animales como reservorios de este parásito (WHO, 1991). Sin embargo, a pesar de las altas frecuencias de infección que se han encontrado en los tlacuaches de países de Centro y Sudamérica, solamente en Venezuela se han realizado estudios que involucran parámetros poblacionales de *D. marsupialis* (Telford *et al* 1979; Telford y Tonn, 1982). En estos estudios, se ha determinado la importancia de este marsupial como reservorio de *T. cruzi*, no sólo considerando sus elevadas frecuencias de infección, sino además estableciendo la influencia de la estructura poblacional de estos mamíferos en la prevalencia de infección.

En México, además de la escasez de estudios sobre reservorios de *T. cruzi*, no se ha realizado ningún trabajo dirigido a establecer su papel en la epidemiología de esta enfermedad, con base en el conocimiento de los aspectos biológicos y poblacionales de los reservorios silvestres, los cuales constituyen para la Organización Mundial de la Salud, elementos clave en el estudio de la epidemiología de esta zoonosis.

IV. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Las características poblacionales de los tlacuaches *D. virginiana* y *D. marsupialis* son factores importantes en la transmisión de *T. cruzi* en el ámbito peridomiciliar rural del municipio de Mérida.

V. OBJETIVO GENERAL

Integrar el conocimiento de las características poblacionales de los tlacuaches presentes en el área de estudio, a los criterios de infección por *T. cruzi* para conocer su papel como reservorios en el ciclo de transmisión peridomiciliar de este parásito en un medio rural del municipio de Mérida en el estado de Yucatán.

V.1. Objetivos Específicos.

V.1.1. Determinar la identidad específica de los tlacuaches presentes en el área de estudio.

V.1.2. Determinar la densidad, estructura de edades, patrón de reproducción y desplazamiento de los tlacuaches presentes en el área de estudio.

V.1.4. Determinar la presencia de vectores en el interior de las madrigueras de los tlacuaches.

V.1.6. Determinar si los triatomas constituyen parte de la dieta de los tlacuaches presentes en el área de estudio.

V.1.7. Conocer la prevalencia de infección con *T. cruzi* de los tlacuaches presentes en el área de estudio.

VI. ÁREA DE ESTUDIO

VI.1 Ubicación geográfica: Este estudio se realizó en Dzidzilché, una localidad rural perteneciente al municipio de Mérida ubicada en el norte del estado de Yucatán en las coordenadas $21^{\circ} 08'$ latitud norte y $89^{\circ} 41'$ longitud oeste. Esta localidad se encuentra a 25 km al noroeste de la ciudad de Mérida y a 10 km al suroeste del puerto de Progreso (Figura 3).

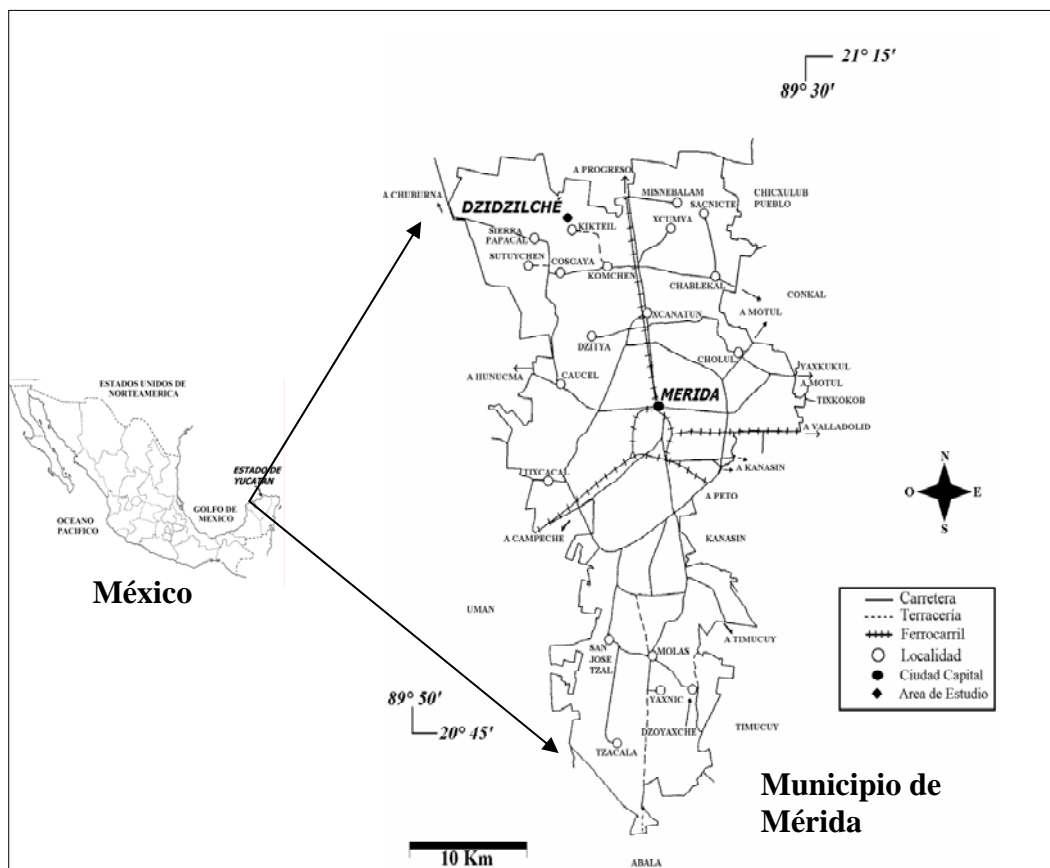


Figura 3. Ubicación del área de estudio en el municipio de Mérida.

VI.2 Descripción: La localidad de Dzidzilché cuenta con una población de 270 personas agrupadas en 47 viviendas. Estas viviendas están construidas principalmente de madera, barro y mampostería con techos de lámina de cartón, aluminio y palma. La mayoría de las viviendas constan de dos habitaciones principales (sala-comedor y cocina) y uno o varios anexos que utilizan como bodega; en el patio son comunes árboles frutales como el zapote, ciruela, papaya, además de animales de corral como gallinas y guajolotes, y animales

domésticos como perros, gatos, cerdos y caballos (INEGI, 1998). Algunas familias de esta localidad y de poblados cercanos como Kikteil y San Ignacio, poseen ganado bovino y caprino, por lo que es común encontrar ganado forrajeando en la periferia del pueblo. Dzidzilché se encuentra ubicado en un área donde, hasta hace algunos años, las principales actividades de sus pobladores estaban relacionadas con el cultivo y procesamiento del henequén. En la actualidad, las principales actividades de sus habitantes son la pesca y albañilería en los hombres y el lavado y planchado de ropa en las mujeres en las ciudades de Progreso y Mérida (INEGI, 1998). Aunque no son la mayoría, algunas familias poseen terrenos de cultivo o milpas y dependen de su producción para su sostenimiento y alimentación.

VI.3 Clima y Vegetación: Dzidzilché presenta una temperatura promedio de 25.4 °C y una precipitación media anual de 469 mm (Flores y Espejel, 1994). Esta localidad se encuentra incluida en una franja climática del tipo Bs subtipo Bs1, que se caracteriza por escasas lluvias en verano y altas temperaturas, y es un clima intermedio entre el árido (Bs0) y los húmedos (Aw0) (Flores y Espejel, 1994). Debido a su cercanía geográfica con el puerto de Progreso, y a que en esta ciudad se encuentra la estación meteorológica más cercana, la caracterización de las condiciones climáticas de Dzidzilché se hizo con base en la información obtenida de esta estación meteorológica, la cual tienen registros climáticos de más de 60 años consecutivos (García, 1988). De esta manera, se preparó un climograma para representar las condiciones de temperatura y precipitación pluvial del área de estudio (Figura 4). En este climograma es evidente una marcada estacionalidad de la precipitación, con una época de lluvias en verano y que inicia prácticamente en junio y finaliza en octubre. A diferencia de la precipitación, la temperatura promedio no sufre fluctuaciones muy marcadas en el año, sin embargo, puede definirse un período más caluroso del año que abarca el período comprendido entre mayo y septiembre.

La vegetación xerófita y halófito (vegetación de duna costera y matorral de duna), así como la selva baja caducifolia espinosa y selva baja caducifolia, son los tipos de vegetación dominantes del área de estudio (Flores y Espejel, 1994). Gran parte de los terrenos y patios familiares de la localidad, colindan con matorrales secundarios derivado de selva baja caducifolia originados en plantíos de henequén abandonados por la depreciación de la fibra de henequén. En algunas áreas de la periferia de la localidad, se observan áreas muy reducidas de selva baja caducifolia perturbada debido al forrajeo del ganado y la quema de áreas para el cultivo de las milpas o para la construcción de viviendas.

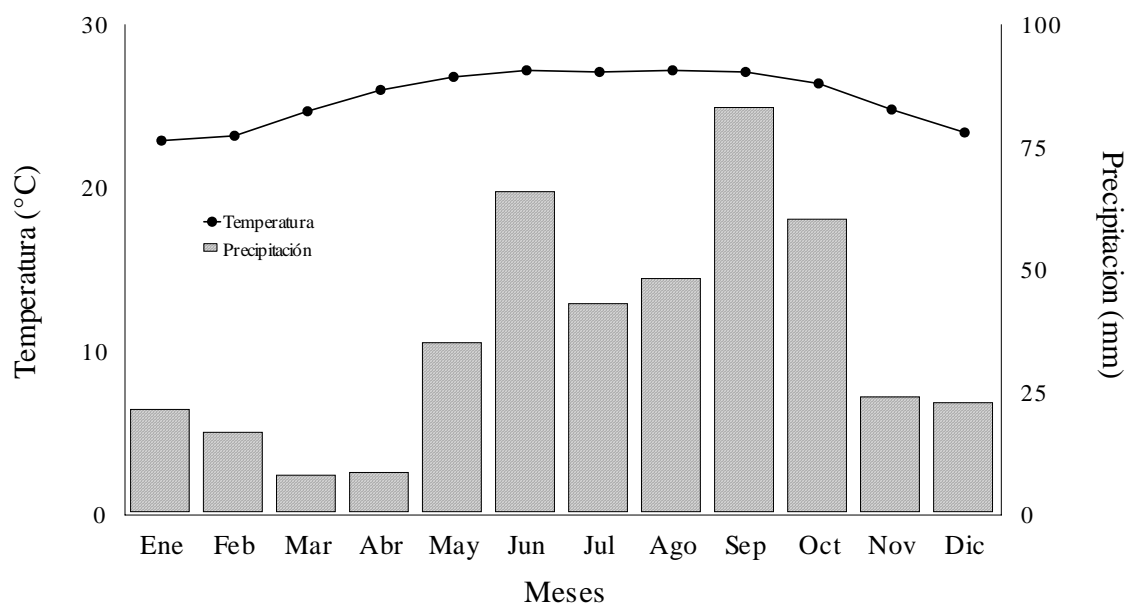


Figura 4. Climograma de Dzidzilché según datos de García, (1988).

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de laboratorio se realizó con la infraestructura disponible del Laboratorio de Parasitología y Micología del Centro de Investigaciones Regionales (CIR) “Dr. Hideyo Noguchi” de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY). Además, esta misma institución proporcionó vehículos para el trabajo de campo, el cual estuvo apoyado por la colaboración de un residente de la localidad de estudio.

VII.1. TRABAJO DE CAMPO

VII.1.1. Identificación de tlacuaches

Inicialmente, los tlacuaches fueron identificados con base en los caracteres externos propuestos por Gardner (1973), principalmente los de coloración del pelaje y las proporciones corporales (Cuadro 1). Sin embargo, desde el principio del estudio no fue posible establecer la identidad de los tlacuaches capturados, porque las proporciones corporales y la coloración del pelaje de estos animales no coincidieron con lo descrito por este autor para cada especie. Por ello, fue necesario utilizar la morfología de los cromosomas en una serie de cinco tlacuaches que representaban el rango de variación en la coloración observada en los animales capturados. De acuerdo con Gardner (1974), *Didelphis virginiana* ($2n=22$) presenta seis pares de cromosomas subtelocéntricos y cuatro pares de autosomas acrocéntricos, mientras que en *D. marsupialis* ($2n=22$) todos los cromosomas son acrocéntricos (Cuadro 1).

La obtención de los cromosomas de los tlacuaches, se realizó tomando como punto de referencia una técnica establecida para humanos (Salamanca, 1990), y siguiendo las condiciones de cultivo de sangre de tlacuaches de Schneider (1973). Brevemente, de cuatro a seis gotas de sangre heparinizada, obtenida asépticamente de las venas caudales de los tlacuaches, fueron sembradas en 5 ml de medio RPMI-1640 (Sigma®). Se agregaron 0.5 ml de fitohemaglutinina (Microlale, Co.®) para estimular la mitosis, se mezcló suavemente y se incubó a 37 °C por 48 h con una agitación por lo menos cada 24 h. Noventa minutos antes de las 36-48 h de incubación, se agregaron 0.5 ml de colchicina (Sigma®) para detener el ciclo celular en la metafase. Después de centrifugar el medio de cultivo (1500 revoluciones por minuto (rpm) durante 5 min.), las células del botón o precipitado, fueron resuspendidas con 5 ml de la solución hipotónica de cloruro de potasio 0.075 molar (KCl). Estas células se incubaron en baño maría a 37 °C durante 5-10 min., con una agitación cada 2-3 min. Posteriormente, esta muestra fue nuevamente centrifugada (1500 rpm por 15 min.), y se le

agregó el fijador (metanol y ácido acético a una proporción de 3:1) para romper las células linfocíticas. Después de un período de reposo de 20 min y una centrifugación (1500 rpm por 5 min.), se agregaron 3 ml del fijador a las células del botón, se agitó suavemente y se repitieron dos ciclos de centrifugación (1500 rpm por 5 min.). El sedimento final obtenido, fue resuspendido con ocho gotas del fijador. Con la ayuda de un gotero, se dejaron caer varias gotas de esta solución en portaobjetos limpios, desde una altura de aproximadamente un metro. Estas preparaciones, fueron teñidas con el colorante de Giemsa para la búsqueda microscópica de linfocitos en metafase. Esta búsqueda se hizo explorando toda la laminilla con el objetivo de 40x en un microscopio de luz (Zeiss-Axiostar®) y confirmando la presencia de metafases, con el objetivo de 100x. Algunas metafases fueron fotografiadas.

Todas las muestras sanguíneas para la obtención de los cromosomas, fueron procesadas en el laboratorio de Genética del CIR “Dr. Hideyo Noguchi” de la UADY con la asesoría de la Dra. Doris Pinto Escalante, responsable de este laboratorio

VII.1.2. Parámetros Poblacionales

Captura-Marcaje-Recaptura. Para el estudio de los parámetros poblacionales, densidad, estructura poblacional y desplazamiento de los tlacuaches, se utilizó el modelo de Captura-Marcaje-Recaptura (Nichols, 1992). La densidad poblacional de los tlacuaches fue estimada por el Índice de Jolly-Seber (Krebs, 1989).

Se construyó un cuadrante de 4 x 4 trampas tipo National de 66 x 23 x 23 mm (Tomahawk Live Trap Co.®) con una separación de 250 metros de distancia cada una, que abarcó una superficie de 156 hectáreas e incluyó a todas las viviendas de la localidad (Figura 5). Este cuadrante se hizo tomando como base los trazos de algunas calles y callejones en un croquis de la localidad, y la distancia entre las trampas se midió con un cordel de 5 cm de grosor y 300 m de longitud. Para facilitar la medición, el cordel fue subdividido en 5 segmentos de 50 m cada uno. En algunas áreas con vegetación secundaria se tuvieron que

abrir brechas para poder hacer las mediciones.

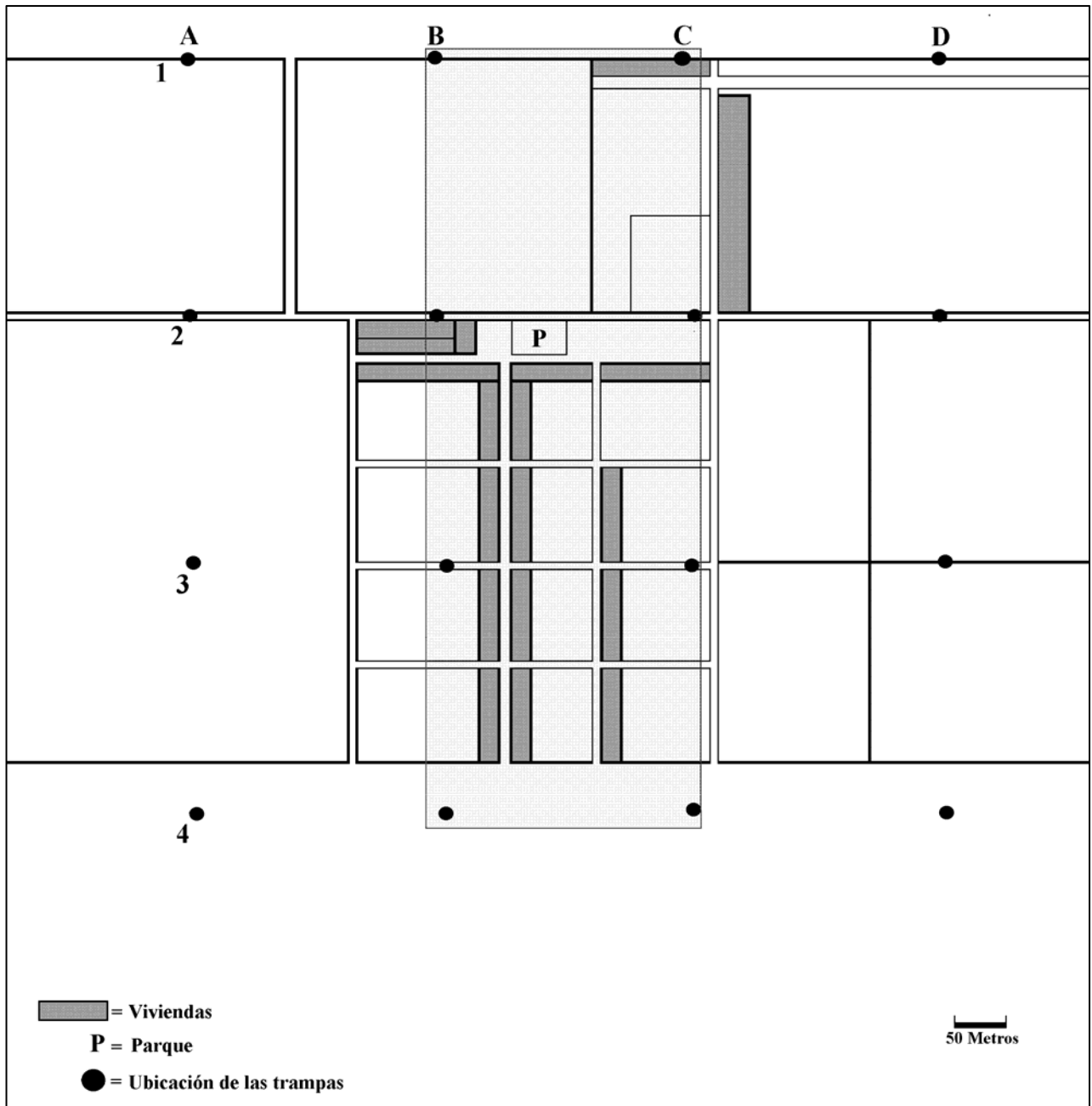


Figura 5. Cuadrante de muestreo construido en Dzidzilché para la captura de tlacuaches. El área sombreada señala las líneas de trampas cercanas a las viviendas (peridomésticas)

Los sitios seleccionados para la colocación de las trampas fueron denominados como estaciones de colecta o captura (EC). Estos sitios fueron marcados con una clave compuesta de una letra y un número (por ejemplo, A1) (Figura 5). Por cada EC se colocó una trampa. Con fines comparativos, las EC fueron denominadas como, a) peridomésticas y b) no peridomésticas. Las trampas colocadas a una distancia menor de 50 m de las viviendas o de sus patios, se les denominó EC peridomésticas, y aquellas colocadas a una distancia mayor de 50 m de las viviendas, se les denominó EC no peridomésticas. Las EC peridomésticas estuvieron representadas por las líneas de trampas B1-B4 y C1-C4, y las no peridomésticas por las líneas A1-A4 y D1-D4. Las trampas fueron cebadas con trozos de frutas de la estación principalmente zapote, papaya y piña, se colocaron en la tarde y se revisaron lo mas temprano posible del día siguiente. La captura de tlacuaches se realizó en nueve períodos de captura de tres semanas de duración cada uno, con un intervalo de tiempo promedio entre cada período de 52 días, durante abril de 1996 a mayo de 1998. La metodología para cada período de captura fue la siguiente: Los tlacuaches capturados fueron marcados mediante un sistema de agujeros en las orejas (Figura 6), utilizando un perforador metálico de 2 mm de diámetro. En ensayos de laboratorio previos a la captura, se observó que estos agujeros permanecen abiertos de dos a tres meses, y aún cuando éstos se cierran, dejan cicatrices perfectamente distinguibles de otras encontradas comúnmente en las orejas de los tlacuaches. Cuando los agujeros de tlacuaches recapturados se encontraron cerrados, éstos fueron remarcados. En esta primera fase, el peso de cada animal fue registrado mediante un dinamómetro. También se tomaron las medidas corporales convencionales para mamíferos, esto es, longitud total (LT), longitud de la pata trasera (LP), longitud de la cola (LC) y longitud de la oreja (LO), así como su fórmula dental (De Blase y Martin, 1981). La edad de los tlacuaches fue calculada a partir de los datos de longitud total y el orden de erupción de los premolares y molares (Petrides, 1949). Con base en estos criterios se construyeron tres clases de edad (cuadro 5).

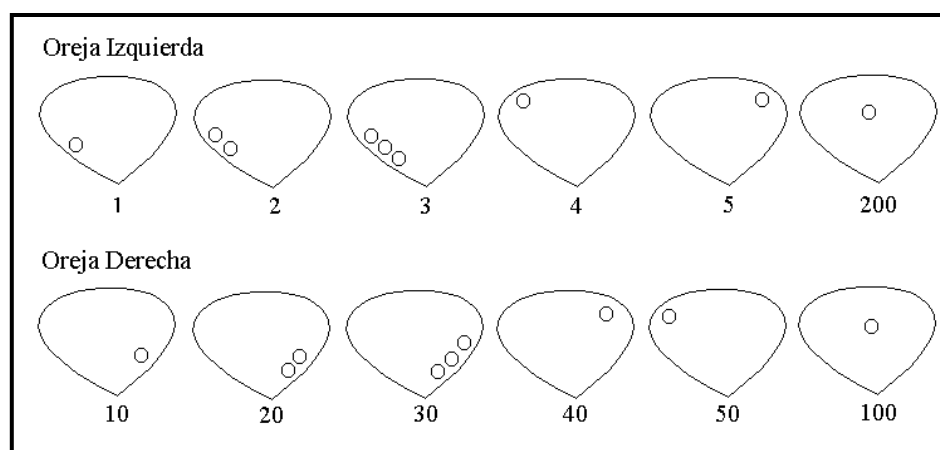


Figura 6. Patrón de perforación en orejas utilizado para el marcaje de tlacuaches.

Cuadro 5. Criterios dentales utilizados para asignar categorías de edad a los tlacuaches de la localidad de Dzidzilché, Yucatán.

Clases de Edad	Fórmula Dental	Edad aproximada (meses)
	a) Maxila b) Mandíbula	
Juveniles	a) 5-1-3-2 (o menos)	3-6
	b) 4-1-3-3 (o menos)	
Subadulto	a) 5-1-3-3	7-10
	b) 4-1-3-4	
Adulto	a) 5-1-3-4	11 o mas
	b) 4-1-3-4	

Actividad Reproductiva de los tlacuaches

La actividad reproductiva de los tlacuaches hembras fue determinada principalmente por la presencia de crías en el marsupio, aunque ocasionalmente se consideraron algunas características del marsupio descritas por Reynolds (1952) para determinar si las hembras habían tenido camadas previas o no (vírgenes). Las características del marsupio registradas fueron: la producción de leche en las tetas y la coloración del pelaje del interior. Las crías que se encontraron en el marsupio fueron contabilizadas, medidas y sexadas para determinar la proporción macho-hembra de cada camada. El estado reproductivo de los machos pudo determinarse por la presencia de una mancha verdosa-amarillenta localizada entre el pecho y cuello, la cual es indicio de un incremento en la producción de espermatozoides de tlacuaches machos (Holmes-Meissner, 1986; Winegarner, 1982).

Finalmente, después de la toma de datos y muestras biológicas, los tlacuaches fueron liberados en el sitio de su captura.

En la segunda semana de cada período de captura, no se abrieron las trampas para permitir que los animales marcados se dispersaran lo más homogéneamente posible en la población durante este tiempo.

Durante la tercera semana, se colocaron nuevamente las trampas para la captura de animales nuevos y recaptura de los previamente capturados. A los animales nuevos se les hizo exactamente lo mismo que a los animales capturados en la primera semana. En el caso de los tlacuaches marcados o recapturados, se revisó la marca en la oreja y se remarcaron aquellos animales cuya marca se estaba cerrando. A los animales que resultaron positivos a la infección con *T. cruzi* en la primera semana, no se les tomó otra muestra sanguínea.

Desplazamiento de los tlacuaches

Las capturas y recapturas fueron registradas por cada EC para determinar el desplazamiento de los tlacuaches. Las distancias recorridas por los animales fueron medidas en un dibujo a escala del cuadrante, trazando una línea recta entre las estaciones de captura y recaptura, midiendo la distancia entre ellas con una regla graduada en centímetros y calculando la distancia en metros de acuerdo a la escala utilizada. El desplazamiento fue analizado estadísticamente por sexo, estado reproductivo y clase de edad de los tlacuaches, y por estación climática utilizando el Análisis de Varianzas (García-Peña, 1988).

VII.1.3. Ubicación de madrigueras de tlacuaches y presencia de triatomas en su interior.

La ubicación de las madrigueras y sitios de refugio de los tlacuaches en el área de estudio, se hizo de acuerdo a una modificación a la técnica de Miles *et al.*, (1981). Se colocó un carrete de hilo en la base de la cola o en la base de la nuca a 20 tlacuaches antes de su liberación. Después de un lapso de tiempo de aproximadamente 10-15 min., se hizo el seguimiento del hilo para ubicar las madrigueras y/o refugios de los animales. Se denominó madriguera a aquel sitio frecuentemente habitado por tlacuaches y con evidencias de su uso frecuente, como la presencia de telas viejas o rotas, hierba seca, papeles, cartones, entre otras. Los sitios de refugio, fueron aquellos utilizados por los tlacuaches exclusivamente como resguardo temporal o escape después de su liberación. Estos sitios no presentaron evidencias de ser utilizados como madriguera (sitios limpios, libres de basura como telas rotas, papeles, etc.).

Una vez localizada la madriguera o sitio de refugio, se hizo una inspección del interior de cada sitio para la búsqueda de triatomas. Los triatomas encontrados fueron transportadas al laboratorio en frascos de plástico con un papel plegado en su interior, para la búsqueda de infección con *T. cruzi*. Las heces u orina obtenidas de estos triatomas por compresión abdominal o alimentación sanguínea, fueron diluidas con buffer de fosfatos (PBS) pH=7.2, y examinadas

microscópicamente. Los triatomas colectados fueron identificados de acuerdo a las claves taxonómicas de Lent y Wygodzinsky (1979).

VII.2 TRABAJO DE LABORATORIO

VII.2.1 Triatomas en la dieta alimenticia de tlacuaches.

Para determinar si los triatomas forman parte de la dieta alimenticia de los tlacuaches, se hizo una búsqueda macroscópica en el excremento de estos mamíferos, obtenido principalmente durante su manipulación. Dicho material fue tratado para su análisis de acuerdo a Hoffmann y Gottschang (1977). Las muestras de heces recolectadas, fueron colocadas en una malla de nylon y lavadas al chorro de agua durante algunos minutos dependiendo del volumen de la muestra. Posteriormente, el material que permaneció en la malla fue desecado por 5-10 min a 80 °C en un horno o en una estufa a 37 °C. Finalmente, este material fue observado en un estereoscopio biocular para la búsqueda de restos de triatomas.

VII.2.2 Infección por *Trypanosoma cruzi* en tlacuaches.

Para el diagnóstico de infección con *T. cruzi*, se extrajeron de 2 a 3 ml de sangre por punción cardíaca o de las venas caudales laterales de cada tlacuache. Las muestras sanguíneas obtenidas, fueron vertidas en tubos con heparina y conservadas en una hielera para su transporte al laboratorio. Además, a cada animal se le realizó un xenodiagnóstico utilizando 5 ninfas de 4° y 5° estadio del insecto vector de la región *Triatoma dimidiata*. Estos insectos fueron obtenidos de una colonia sana mantenida en el laboratorio de Parasitología y Micología del CIR "Dr. Hideyo Noguchi". Las cajitas con las ninfas, fueron colocadas durante 15-20 min sobre el vientre de los animales.

El diagnóstico de infección se realizó en el laboratorio por varios métodos.

a) **Examen directo.** En el laboratorio, una gota de la sangre heparinizada fue diluida 1:1 con PBS pH 7.2 para la observación directa al microscopio de una gota en objetivo de 40x. Por cada muestra, se realizaron dos frotis sanguíneos

en portaobjetos de 25 x 75 mm. Estos frotis fueron fijados con metanol y teñidos con el colorante de Giemsa durante 1 min para su observación al microscopio de luz en búsqueda de tripanosomas.

b) **Inoculación de sangre de tlacuaches a ratones de laboratorio.** Una muestra de sangre diluída 1:1 con PBS pH 7.2, fue inoculada a dos ratones hembras de aproximadamente 20 gr de peso de la cepa NIH (Harlan Co.®). Esta cepa de ratones suizos albinos es mantenida en el bioterio del CIR "Dr. Hideyo Noguchi". Después de la inoculación, la sangre de los ratones obtenida por corte de la punta de la cola, fue examinada microscópicamente cada tercer día durante 30 días posteriores a la inoculación, para la búsqueda de los parásitos circulantes (examen directo). Después de este período, los ratones fueron sacrificados para la búsqueda de parásitos intracelulares o amastigotes en el corazón.

c) **Microconcentración de sangre.** Este método involucra la observación microscópica de la interfase entre los glóbulos rojos y los leucocitos obtenida después de la centrifugación de una muestra de sangre (de tlacuaches y ratones inoculados) en un tubo capilar a 1500 rpm durante 1 min en una microcentrífuga. Esta interfase fue diluída con PBS pH 7.2 para su observación microscópica. Se consideraron negativos a *T. cruzi* aquellos ratones en los que después de los 30 días de inoculados no se observaron parásitos circulantes y en los que no se observaron amastigotes en corazón.

d) **Xenodiagnósticos.**

Las heces u orina de los triatomas de los xenodiagnósticos, fueron diluídas con PBS pH 7.2 y examinadas al microscopio cada 15 días durante dos meses para la búsqueda de *T. cruzi*. Los xenodiagnósticos fueron considerados negativos si los triatomas no presentaron infección después de dos meses. Las heces y/o orina positivas a tripanosomas fueron diluídas en PBS pH 7.2 e inoculadas a ratones NIH para la identificación de *T. cruzi* como ya se expuso anteriormente.

e) **Observación de parásitos intracelulares.** La prueba confirmatoria de la infección con *T. cruzi*, fue la presencia de amastigotes en cortes histológicos de

corazón de tlacuaches y de ratones inoculados con sangre de tlacuaches o excremento de triatomas positivos. La búsqueda de amastigotes en corazón de tlacuaches, se realizó en 18 tlacuaches capturados en el último período de colecta.

El corazón obtenido de tlacuaches y ratones, fue cortado longitudinalmente para su fijación formalina (formol al 10%). Una vez fijadas, las muestras histológicas fueron incluidas en parafina para la realización de cortes de 5 μ de grosor en un Microtomo (American Optical®, Mod. 820). Las preparaciones histológicas fueron teñidas con los colorantes hematoxilina-eosina y se observaron al microscopio para la búsqueda de amastigotes.

f) Técnica de la Polymerase Chain Reaction (PCR).

El diagnóstico de infección con *T. cruzi* en tlacuaches fue originalmente propuesto por las técnicas arriba mencionadas. Sin embargo, en las etapas finales del estudio en nuestro laboratorio se fue estandarizando una cuarta técnica diagnóstica para su aplicación en otros proyectos, la Polymerase Chain Reaction (PCR) que permite detectar el ácido desoxirribonucleico (ADN) del parásito en muestras sanguíneas. Por lo tanto, esta técnica fue utilizada al final del estudio con el objetivo de corroborar los resultados de infección obtenidos con los métodos originales. Para ello, se utilizaron muestras de 100 μ l de sueros de tlacuaches incubadas por 10 min a 95°C, centrifugadas, 10 μ l del sobrenadante se usó para la reacción. Se usaron los oligonucleótidos TC1 y TC2 específicos para la región conservada del DNA del cinetoplasto de *T. cruzi* para la amplificación específica de un fragmento de 236 pb de DNA (Dorn *et al.*, 1996).

VII.3. Análisis Estadísticos

Algunos períodos de captura incluyeron dos meses diferentes, por lo tanto, las comparaciones y análisis se realizaron con base en los períodos de captura realizados y no mensualmente. También, las comparaciones de los resultados se hicieron tomando en cuenta las estaciones climáticas (lluviosa y seca). Tomando en cuenta lo anterior, la captura y recaptura de los tlacuaches fueron comparadas por tipo de EC (peridoméstica y no peridoméstica) utilizando el análisis de Chi Cuadrada (García, 1988). El desplazamiento fue comparado por sexo, edad, condición reproductiva, período de captura y estación climática, mediante el Análisis de Varianzas (ANOVA). El número de tlacuaches en estado reproductivo fue comparado por período de captura, edad y sexo. La frecuencia de tlacuaches infectados fue comparada por tipo de trampa, período de captura y estación climática mediante el análisis de Chi Cuadrada. De la misma forma, la prevalencia de infección fue comparada por edad, sexo, condición reproductiva, estación climática y período de captura por la prueba de Chi Cuadrada. Los análisis fueron realizados en los paquetes estadísticos EPI-Info versión 6.0 y Statistica versión 6.0.

VIII. RESULTADOS

VIII.1. Identidad específica de los tlacuaches.

La morfología de los cromosomas de 92 de los 94 tlacuaches estudiados (97.8%), correspondieron a *D. virginiana* y los otros dos a *D. marsupialis* (Figura 6). Los distintos fenotipos que se encontraron en los tlacuaches capturados en Dzidzilché, están representados en la composición de imágenes de la figura 7. Usando la morfología de los cromosomas como criterio taxonómico, se encontró que todos estos fenotipos pertenecieron a una sola especie, *D. virginiana*. Algunas de las inconsistencias encontradas en los caracteres descritos por Gardner (1973) fueron las siguientes: la coloración principalmente de los cachetes, señalada como rasgo diagnóstico para *D. virginiana*, se presentó desde blanco (típico *virginiana*) hasta amarillo-claro; la coloración del pelaje corporal varió desde blanquecino, café, hasta un tono negruzco; con respecto a las proporciones corporales, ambas proporciones (proporción del color negro de la base de la cola y la proporción cuerpo-cola) fueron muy variables y no se ajustaron a lo descrito para *D. virginiana*.

VIII.2. Parámetros Poblacionales de *D. virginiana*.

VIII.2.1. Captura y recaptura de tlacuaches.

De los 94 tlacuaches capturados, 53 (56.3%) fueron adultos, 32 (34.1%) subadultos y 9 (9.6%) juveniles. El 60.7% de los tlacuaches estuvo compuesto por hembras y el 39.3% por machos. La captura y recaptura de los tlacuaches fue significativamente mayor en las EC peridomésticas ($\chi^2=142.32$ $p<0.05$) (Figura 8). Se lograron recapturar 25 tlacuaches (16 hembras y 9 machos), lo que representó un éxito de recaptura del 26.6%. En el cuadro 6, se presenta con detalle la frecuencia de las recapturas. Todos los tlacuaches recapturados, excepto uno, fueron adultos. En el mismo cuadro es evidente que todos los animales recapturados en más de una ocasión fueron hembras reproductivas y, de las nueve hembras recapturadas una sola vez, cuatro presentaron crías en el marsupio. Ocho de los nueve machos recapturados presentaron madurez

reproductiva.

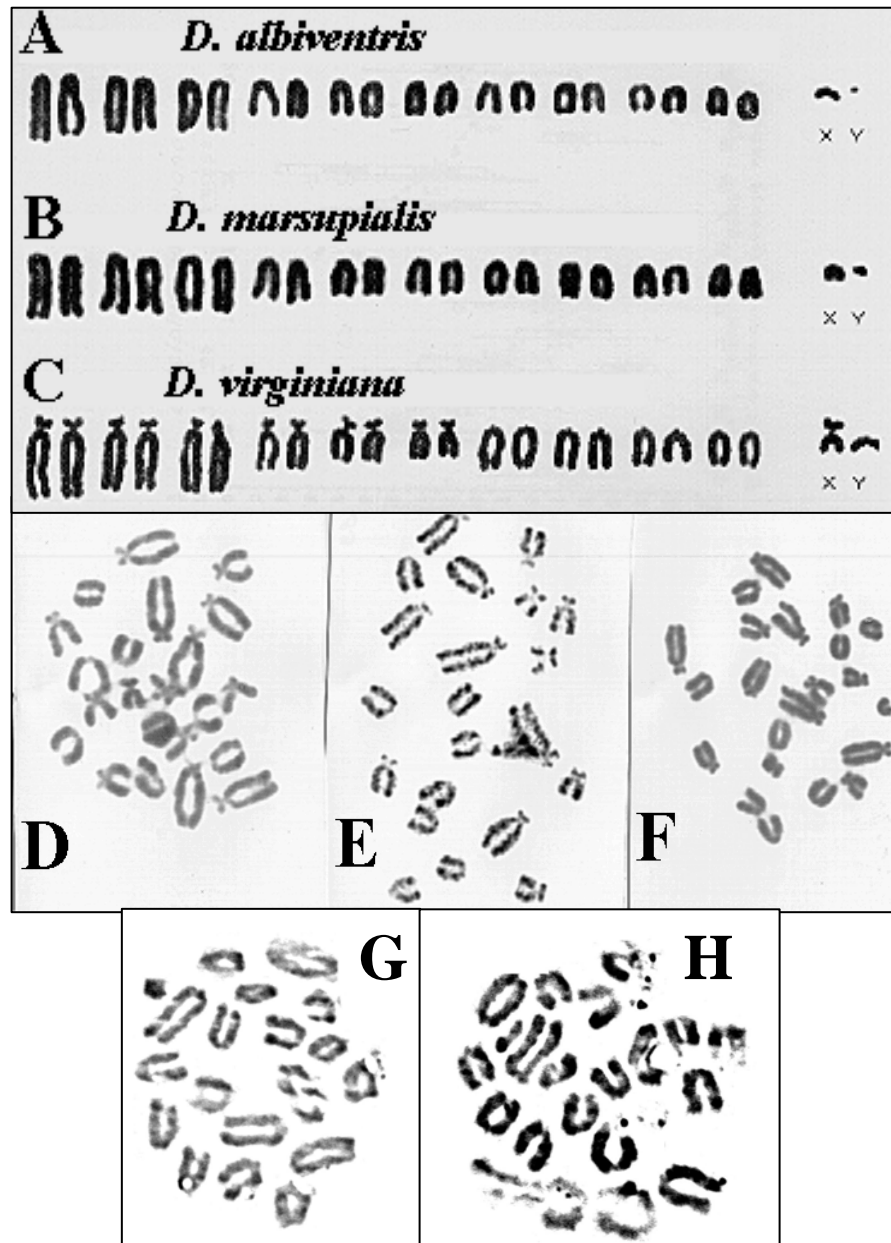


Figura 7. Cariotipos de los miembros del género *Didelphis* (A, B y C) (Gardner, 1973), metafases de linfocitos sanguíneos de tres fenotipos de *Didelphis virginiana* (D, E y F) y cromosomas acrocéntricos de los dos individuos de *D. marsupialis* (G y H).

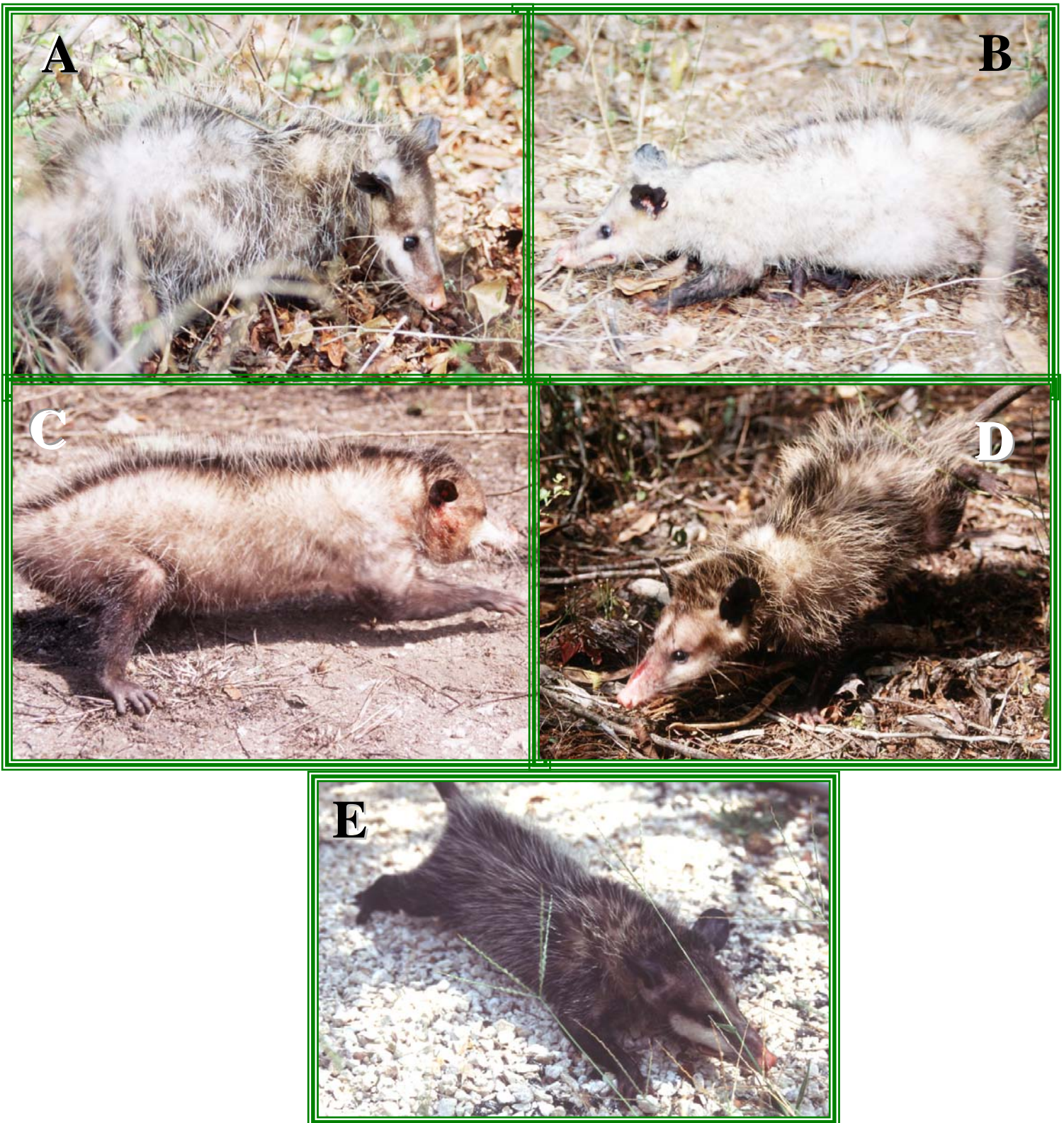


Figura 8. Fenotipos de cinco tlacuaches que representan la variación en la coloración del pelaje de *Didelphis virginiana* en Dzidzilché, Yucatán. **A**, subadulto; **B**, adulto viejo, **C**, fenotipo “*marsupialis*”; **D**, adulto; **E**, Juvenil.

En total, se realizaron 38 recapturas de tlacuaches, 20 (52.6%) de ellas ocurrieron durante el mismo período (intraperíodo) y 18 (47.4%) de un período a otro (interperíodo) (Cuadro 7). Las hembras predominaron sobre los machos en ambos tipos de recapturas; 16 por 4 en recapturas intraperíodo y 11 por 7 en recapturas interperíodo, respectivamente. En las recapturas interperíodo, nueve ocurrieron en períodos consecutivos, de las cuales siete, fueron de hembras con crías en el marsupio.

El tiempo promedio entre cada recaptura interperíodo consecutiva y no consecutiva, fue de 57 ± 27.8 días y de 220 ± 71.8 , respectivamente. Las recapturas intraperíodos se realizaron en un tiempo promedio de 10.7 ± 6.4 días.

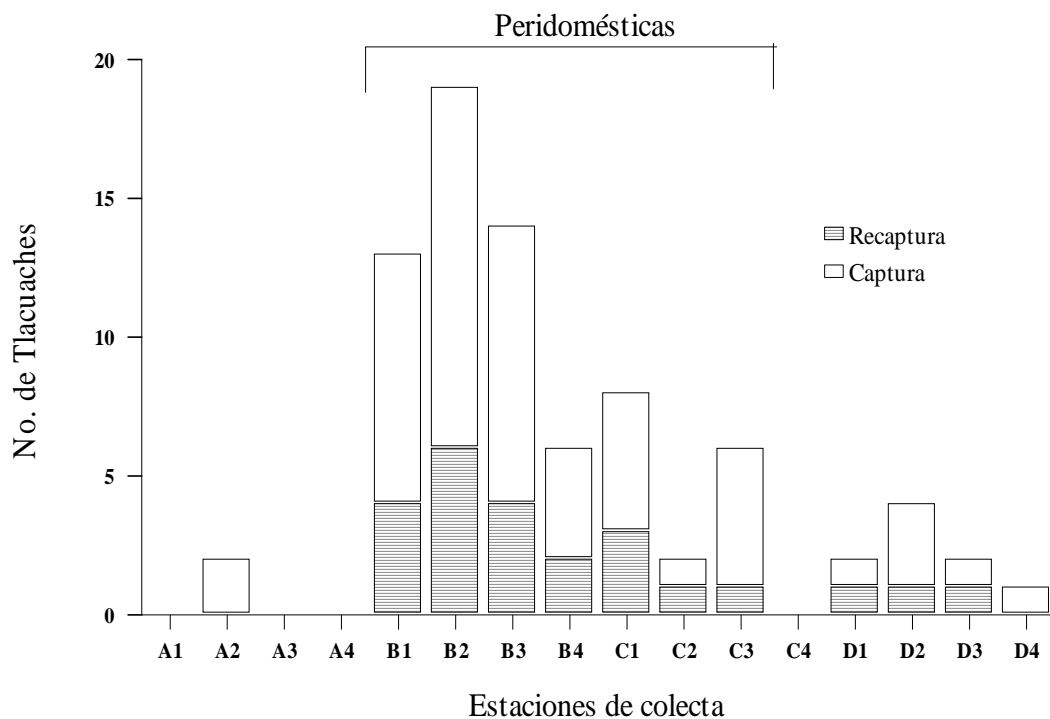


Figura 9. Captura y recaptura de *Didelphis virginiana* en las estaciones de colecta (EC) en Dzidzilché, Yucatán, durante abril 1996-mayo 1998.

Cuadro 6. Frecuencia de recaptura de *Didelphis virginiana* en Dzidzilché, Yucatán, durante abril 1996-mayo 1998.

No. de tlacuaches recapturados	Frecuencia de recaptura	Sexo		No. de recapturas
		♀	♂	
18	1	9	9	18
3	2	3	0	6
3	3	3	0	9
1	5	1	0	5
Total= 25		Total= 16	Total= 9	Total= 38

Cuadro 7. Distribución de la recapturas de *Didelphis virginiana* en Dzidzilché, Yucatán, durante los períodos de captura.

Períodos	Recapturas	Recapturas	Total	Estación Climática (precipitación pluvial en mm)
	Intraperíodo	Interperíodo		
<u>AM-96</u>	2	0	2	Seca (0.6)
JJ-96	0	0	0	Lluvias (44)
AS-96	0	0	0	Lluvias (58)
<u>N-96</u>	2	1	3	Seca (0.4)
<u>F-97</u>	5	4	9	Seca (7.32)
<u>AM-97</u>	0	5	5	Seca (9.9)
SO-97	0	0	0	Lluvias (41.2)
<u>FM-98</u>	5	0	5	Seca (11.6)
<u>AM-98</u>	4	10	14	Seca (0)
Total	18	20	38	

Abreviaturas: **AM-96**=Abril-Mayo 1996, **JJ-96**=Junio-Julio 1996, **AS-96**=Agosto-Septiembre 1996, **N-96**=Noviembre 1996, **F-97**=Febrero 1997, **AM-97**=Abril-Mayo 1997, **SO-97**=Septiembre-October 1997, **FM-98**=Febrero-Marzo 1998, **AM-98**=Abril-Mayo 1998. Los períodos subrayados correspondieron a la época seca de cada año.

Durante todo el estudio, las recapturas se realizaron en períodos que fueron parte de la época de secas (Cuadro 7).

VIII.2.2. Densidad Poblacional.

Los valores de densidad poblacional de *D. virginiana* obtenidos por el índice de Jolly-Seber para los nueve períodos de captura, se presentan en el cuadro 8. Es notoria la diferencia en la densidad poblacional calculada para cada período de captura, principalmente en los períodos compuestos por meses de la época de secas de cada año donde se alcanzaron las mayores densidades de tlacuaches, 0.77 y 0.62 individuos por hectárea. Debido a que los valores de densidad poblacional obtenidos presentaron una proporción directamente proporcional con el número de tlacuaches capturados por período, en el resto de la tesis se hará referencia solamente al número de animales capturados.

Cuadro 8. Densidad poblacional de *Didelphis virginiana* en Dzidzilché, Yucatán, en nueve períodos de captura, durante el período abril 1996-mayo 1998.

Períodos	Densidad (Individuos/Ha.)	n
<u>AM-96</u>	-	14
JJ-96	0.10	8
AS-96	0.57	4
<u>N-96</u>	0.77	17
<u>F-97</u>	0.55	10
<u>AM-97</u>	0.05	3
SO-97	0.16	9
<u>FM-98</u>	0.62	12
<u>AM-98</u>	-	17

Abreviaturas como en el cuadro 7.

Nota: Los períodos subrayados fueron parte de la época seca de cada año. La estimación de la densidad por el método de Jolly-Seber, requiere de capturas previas y posteriores, por ello, en el primero y último período no se presentan valores de densidad.

VIII.2.3. Características Reproductivas de *D. virginiana*.

La captura de tlacuaches hembras con crías estuvo prácticamente restringida a cuatro períodos, los tres AM y FM-98, los cuales incluyen meses correspondientes a la época de secas (Figura 9A). Solamente dos hembras reproductivas fueron capturadas en el período JJ-96 correspondiente a la época lluviosa. En cambio, los machos reproductivos fueron capturados en todos los períodos, con excepción de AS-96 (Figura 9B).

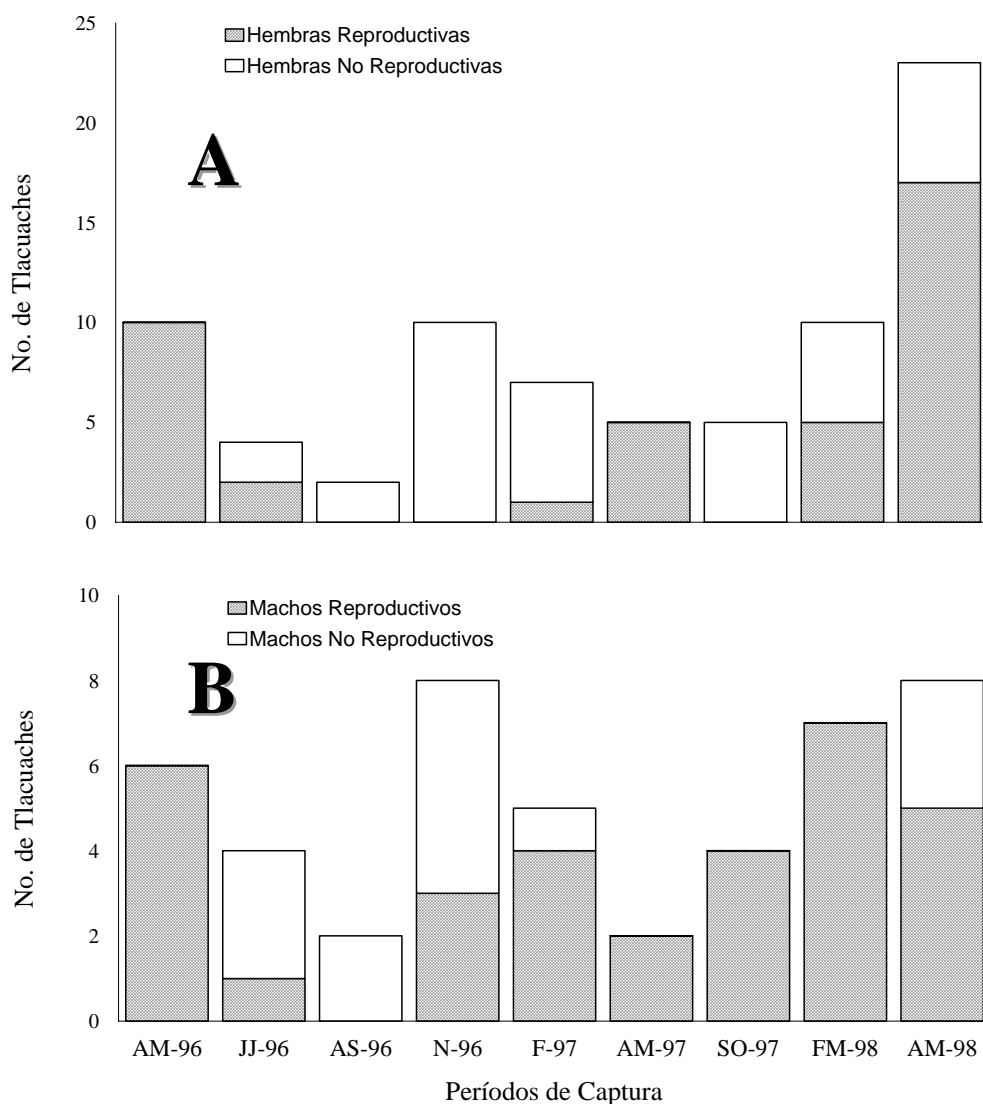


Figura 10. Distribución de los tlacuaches hembras (A) y machos (B) de *Didelphis virginiana* en estado reproductivo, capturados durante los períodos de captura realizados de abril 1996 a mayo 1998 en Dzidzilché, Yucatán.

Las hembras tuvieron un tamaño de camada promedio de 9.1 ± 1.5 crías. Las hembras capturadas en el período JJ-96 presentaron la camada mas pequeña (6.5 ± 3.5 crías) (Cuadro 9). De acuerdo con el cálculo de la edad de las crías presentes en el marsupio de las hembras y del tiempo de gestación de estos mamíferos (13 días), es posible establecer que el 75% de los apareamientos de las hembras reproductivas capturadas en los períodos AM-96, AM-97 y AM-98, ocurrieron durante el mes de Marzo de los tres años correspondientes (Cuadro 9, Anexo I). El apareamiento de las dos hembras que presentaron crías en el período JJ-96, ocurrió entre el final de mayo y principios de junio del mismo año.

Cuadro 9. Tamaño de camada y edad de los crías en los períodos reproductivos de *D. virginiana* en Dzidzilché, Yucatán, durante el período abril 1996-mayo 1998.

Períodos	Número de Camadas (n=28)	Tamaño Camada Promedio (d.e.)	Edad Emb. (días) Promedio (d.e.)
<u>AM-96</u>	9	9.4 (± 1.1)	29.2 (± 8.4)
JJ-96	2	6.5 (± 3.5)	3 (± 2.8)
<u>AM-97</u>	5	9.4 (± 1.1)	40.2 (± 7.4)
<u>FM-98</u>	3	8.6 (± 1.5)	7.6 (± 2.5)
<u>AM-98</u>	9	9.3 (± 1.5)	28.8 (± 12.7)

Abreviaturas como en los cuadros 7 y 8. d.e.= desviación estándar

De los 37 machos capturados, 17 (46%) presentaron la mancha verdosa-amarillenta. Analizando la longitud de los testículos de estos machos, se encontró que 14 (82.3%) presentaron medidas iguales o mayores de 20 mm y un rango de edad entre ocho y nueve meses (subadultos y adultos) (Anexo). Sin embargo, esta mancha también se presentó en tres tlacuaches juveniles de cuatro y cinco meses de edad, con testículos entre 8 y 15 mm de longitud. Además, 13 (76.4%) machos que presentaron la mancha fueron capturados en los mismos períodos donde se capturaron hembras reproductivas. Por lo tanto, la presencia de la mancha fue considerada como una evidencia complementaria de la actividad reproductiva de los machos, siempre y cuando éstos también presentaron longitudes testiculares iguales o mayores a los 20 mm.

La edad promedio de los machos y hembras en estado reproductivo fue de 10.9 y 10.4 meses, respectivamente. Los tlacuaches no reproductivos presentaron una edad promedio de 5.6 y 8.8 meses, para machos y hembras respectivamente. Al comparar las edades de los tlacuaches reproductivos y los no reproductivos, se encontraron diferencias significativas tanto para los machos ($F= 71.2$, $p<0.05$) como para las hembras ($F= 5.3$, $p<0.05$).

De las 28 camadas estudiadas, se contabilizaron 174 crías (79 machos y 95 hembras). En el 75% de las camadas se observó predominancia de hembras, los machos predominaron sólo en el 14.2% y en el resto la proporción fue de 1:1. (Figura 10). La proporción global entre sexos de estas camadas fue de 0.83 con una tendencia a la producción de mas hembras que machos ($\chi^2=6.8$ $p<0.05$).

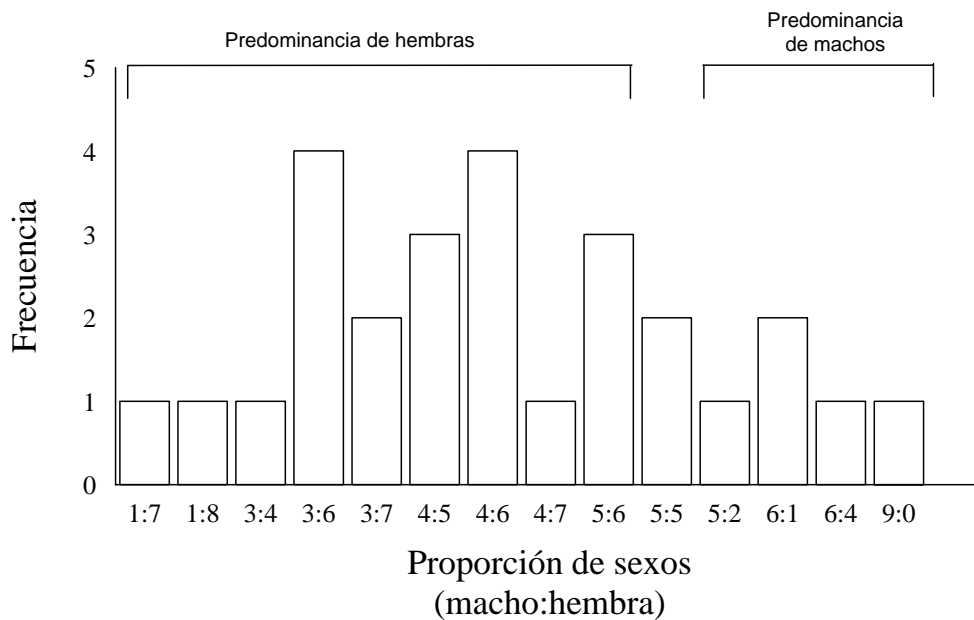


Figura 11. Proporción de sexos de las 28 camadas estudiadas en las hembras reproductivas de *Didelphis virginiana* capturadas en Dzidzilché, Yucatán durante los nueve períodos de captura comprendidos entre abril 1996-mayo 1998.

VIII.2.4. Estructura de Edades de *Didelphis virginiana* en Dzidzilché, Yucatán.

En la figura 11, se presenta la distribución de cada grupo de edad de los tlacuaches capturados en cada período. Los adultos fueron capturados en todos los períodos, aunque su captura fue especialmente mayor en cinco períodos, los de AM de los tres años, F-97 y FM-98 ($\chi^2=29.1$, $p<0.001$). La predominancia de los adultos disminuyó e incluso fueron superados por los juveniles y subadultos en los otros cuatro períodos, principalmente en N-96 y S-97.

Una vez calculada la edad, fue posible determinar la composición generacional de tlacuaches en cada período de captura (Figura 12). En los tres años del estudio, la población de los primeros seis meses estuvo compuesta principalmente por tlacuaches adultos de la generación anterior, pero a partir de los siguientes meses la población nacida en ese año se fue incrementando hasta constituir la mayoría al final del año. En resumen, la población de tlacuaches durante los primeros seis meses del año, está compuesta principalmente por tlacuaches de por lo menos una generación anterior.

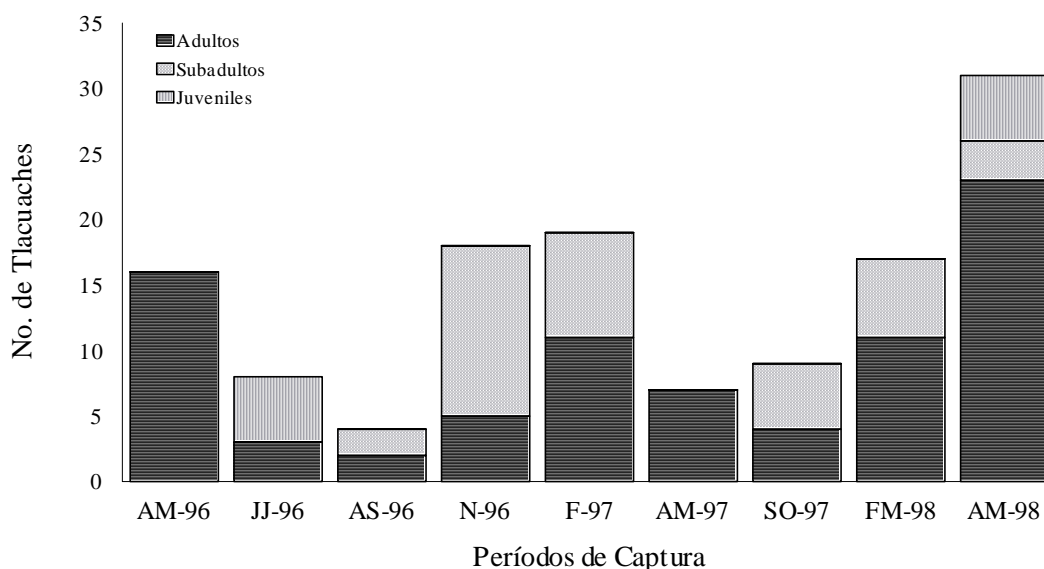


Figura 12. Distribución de los tlacuaches de *Didelphis virginiana* por grupos de edad, capturados durante los nueve períodos de captura comprendidos entre abril 1996-mayo 1998 en Dzidzilché, Yucatán.

VIII.2.5. Madrigueras de tlacuaches. Por medio de la implantación del carrete de hilo y los seguimientos visuales de algunos tlacuaches, fue posible ubicar ocho madrigueras y siete refugios, tal y como se muestra en la Figura 13. Como puede apreciarse, la mayoría de las madrigueras estuvieron localizadas a menos de 200 m de las viviendas, principalmente en la línea de trampas B1, B2, B3, B4, C1 y C3. Los tlacuaches utilizaron como sitios de refugio en los patios de las viviendas, leña o tablas amontonadas, montículos de yerbas seca. En la periferia de las viviendas, asociaciones de plantas (p. ej. "lengua de vaca"), montículos de piedras y hoquedades formadas en piedras ("lajas") o en troncos de árboles, fueron los refugios donde se encontraron tlacuaches. Sin embargo, en estos sitios no se encontraron triatomas. En seis de las ocho madrigueras localizadas, se encontraron triatomas infectados con *T. cruzi*, en cinco madrigueras se colectaron triatomas adultos y en una sólo se recolectaron ninfas (Figura 13). Todos los triatomas encontrados fueron taxonómicamente determinadas como *Triatoma dimidiata* con base en las claves de Lent y Wygodzinsky (1979), y mediante la comparación con ejemplares juveniles y adultos de una colonia de la misma especie mantenida en el Laboratorio de Parasitología del CIR "Dr. Hideyo Noguchi".

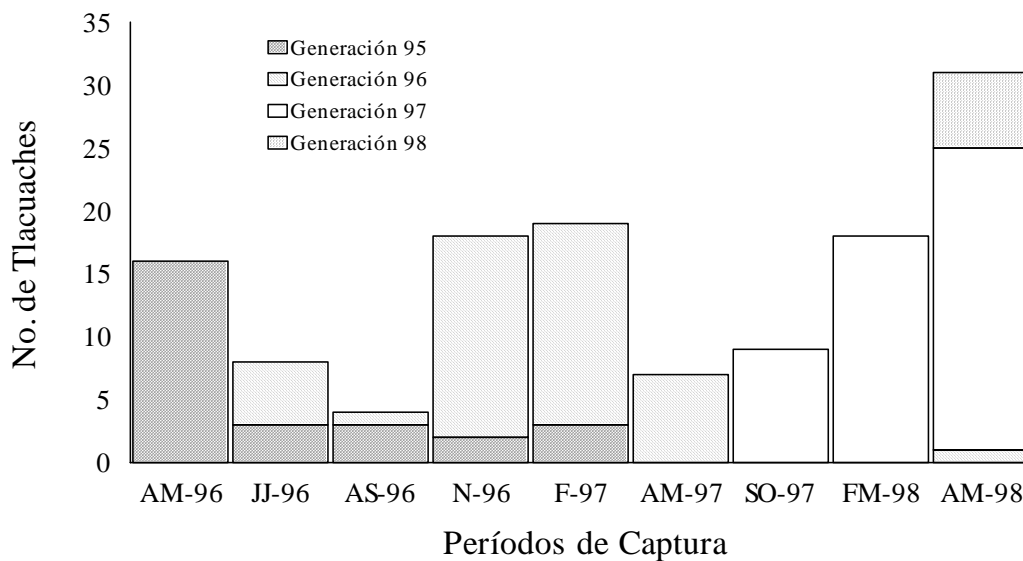
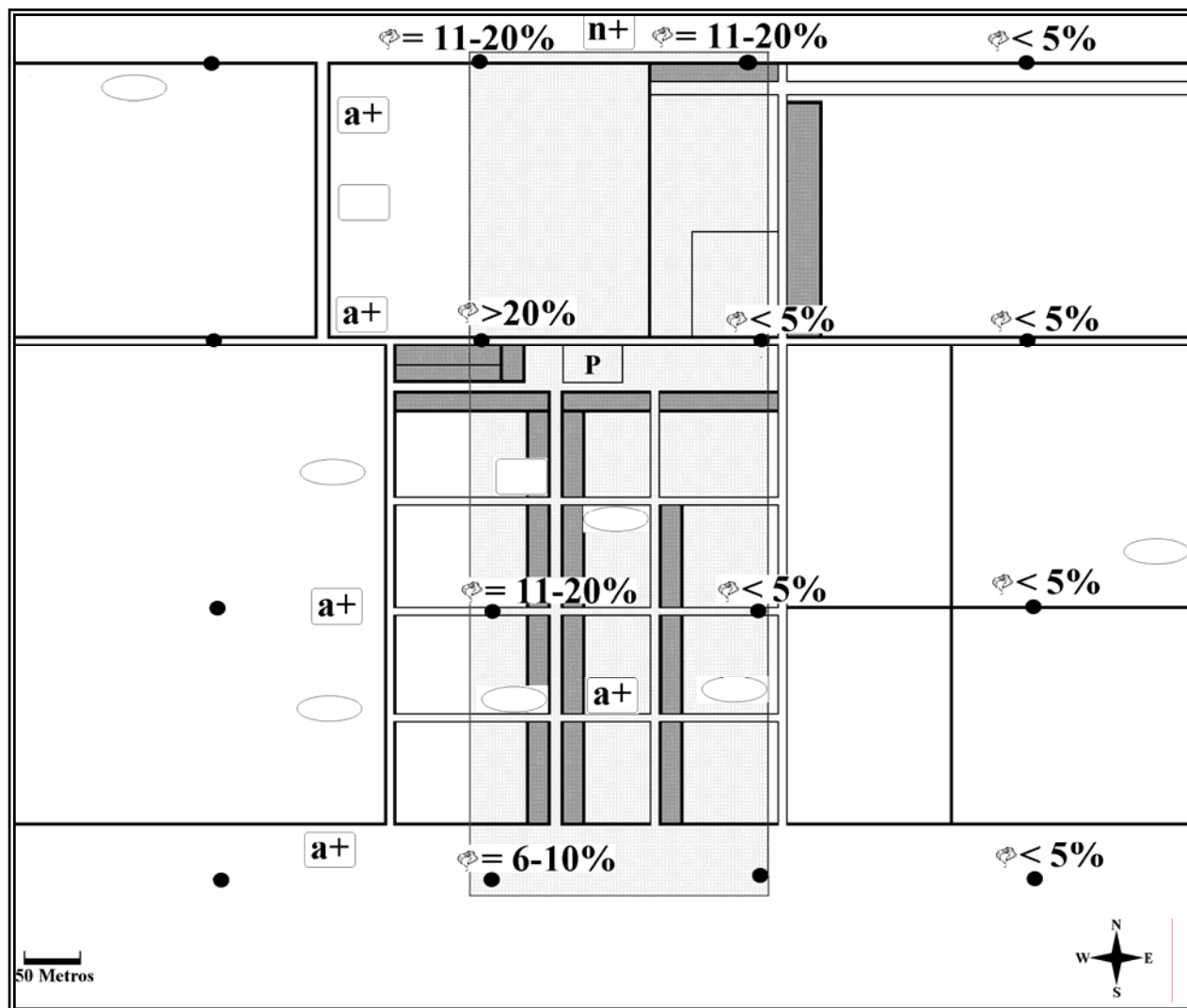


Figura 13. Composición por generaciones de los tlacuaches *Didelphis virginiana* capturados en los diferentes períodos en Dzidzilché, Yucatán.

VIII.2.6. Triatomas en la dieta alimenticia de *Didelphis virginiana*. Se analizaron 39 muestras de heces de tlacuaches obtenidas durante la manipulación de los mismos. Debido a diversas actividades de los pobladores de Dzidzilché, como el forrajeo de ganado, desmonte y quema de algunas zonas cercanas a las trampas, el tránsito de cazadores y campesinos a sus huertos, fue difícil reconocer y obtener buenas muestras de excremento de los tlacuaches cercanas a sus madrigueras o en sus áreas de actividad. El análisis microscópico de las muestras fecales recolectadas, no reveló restos o evidencias de triatomas. Estas muestras estuvieron compuestas predominante por restos de hojarasca, semillas (leguminosas y otras no identificadas), alas de insectos diferentes a triatomas (mariposas y cucarachas), restos de cáscara de huevo, fibras de frutas, estructuras orgánicas no identificadas y piedras (Figura 14).

VIII. 2.7. Desplazamiento de *Didelphis virginiana*

A partir de las 38 recapturas registradas en el estudio, se calcularon las distancias recorridas por edad, sexo y estado reproductivo (Cuadro 10). En este cuadro puede apreciarse que la edad no influyó en el desplazamiento de *D. virginiana*, sin embargo, el sexo y la condición reproductiva fueron factores que influyeron en este parámetro. En el caso del sexo, las hembras se desplazaron menos que los machos ($\chi^2=23.5$, $p<0.05$), y con respecto a la condición reproductiva, las hembras con crías recorrieron menores distancias en comparación con las hembras no reproductivas ($\chi^2=17.1$, $p<0.05$).



Leyendas:

■ = Viviendas

P = Parque

● = Ubicación de las trampas

○ = Refugios o Sitios de Escape

a+ = Madrigueras con triatomas infectadas

□ = Madrigueras

☞ = % de tlacuaches infectados con *Trypanosoma cruzi*

Figura 14. Distribución de la captura de tlacuaches y triatomas infectados con *Trypanosoma cruzi* en las estaciones de captura (EC) y las madrigueras en Dzidzilché, Yucatán, durante el período abril 1996- mayo 1998. La parte sombreada corresponde a la ubicación de las EC peridomésticas.

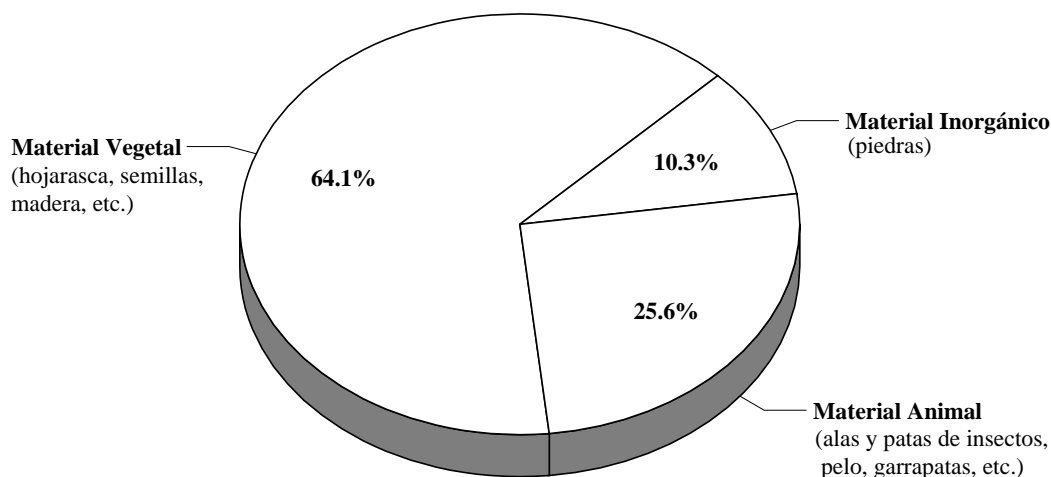


Figura 15. Material orgánico e inorgánico encontrado en 39 muestras de heces de *Didelphis virginiana* en Dzidzilché, Yucatán, durante el período abril 1996-mayo 1998.

Cuadro 10. Desplazamiento promedio de *Didelphis virginiana* con relación a la edad, sexo y condición reproductiva en Dzidzilché, Yucatán, México, durante abril 1996-mayo 1998.

Parámetro Poblacional		Frecuencia de Recaptura ^a	Desplazamiento (m)	
Edad	Adultos	30	275.6 ±50.9	
	Subadultos	6	223.5 ±115.3	
	Juveniles	2	261.1 ±369.2	
Sexo	Machos	9	362.9 ^b ±257.9	
	Hembras	29	236.8 ^b ±250.4	
Estado Reproductivo	Reproductivo	Machos	8	408.2 ^b ±224.8
		Hembras	19	212.8 ^b ±258.1
	No Reproductivo	Machos	1	250
		Hembras	10	326 ±255.1

^an= 38, ^bp<0.05

VIII.3. Prevalencia de infección de *Didelphis virginiana* con *Trypanosoma cruzi*.

Los tripanosomas observados en las muestras de sangre de tlacuaches y/o excremento u orina de triatomas de los xenodiagnósticos que fueron inoculadas a ratones blancos de la cepa NIH, fueron capaces de invadir el tejido cardíaco de por lo menos uno de los dos ratones inoculados. Estos resultados confirmaron que la infección observada en los tlacuaches fue debida a *T. cruzi* (las dos muestras sanguíneas de tlacuaches con tripanosomas que no mostraron invasión intracelular en ratones, fueron excluidas de los análisis posteriores).

VIII.3.1. Diagnóstico de la infección: Las tres pruebas utilizadas para detectar tripanosomas sanguíneos en tlacuaches, tuvieron diferentes valores de sensibilidad para el diagnóstico de infección con *T. cruzi*. El xenodiagnóstico fue la prueba con la mayor sensibilidad (100%), seguido de la microconcentración (83.8%) y el examen directo (58.4%). Con el xenodiagnóstico fue posible, en primer lugar, confirmar el diagnóstico obtenido por el examen directo y la microconcentración y, en segundo lugar, detectar tlacuaches infectados diagnosticados como negativos por estos dos últimas pruebas (Cuadro 11).

Cuadro 11. Comparación de la sensibilidad de los tres métodos utilizados para el diagnóstico de infección con *Trypanosoma cruzi* en *Didelphis virginiana* en Dzidzilché, Yucatán durante el período abril 1996-mayo 1998.

Prueba Diagnóstica	Positivos/Negativos	Sensibilidad (%)
Examen Directo	15/79	58.4
Microconcentración	42/52	83.8
Xenodiagnóstico	52/42	100

La sensibilidad se obtuvo dividiendo los verdaderos positivos (52) entre la suma de los verdaderos positivos mas los falsos negativos (FN) de cada prueba diagnóstica y multiplicando el resultado por 100. Para el examen directo FN= 37, para la microconcentración FN= 10 y para el xenodiagnóstico FN= 0.

VIII.3.2. Infección con *Trypanosoma cruzi* en tlacuaches.

De los 94 tlacuaches capturados, 52 (55.3%) se encontraron infectados con *T. cruzi*; los adultos fueron la proporción de la población mas infectada (50%), seguido de los subadultos (34.6%) y de los juveniles (15.4%). Las hembras tuvieron mayor porcentaje de infección que los machos, 63.5% y 36.5%, respectivamente. La infección de los tlacuaches varió de 25 a 74.1% durante los nueve períodos de captura; AM-97, FM-98 y AM-98 fueron los períodos con las prevalencias mas altas ($\chi^2=903$, $p<0.05$) (Cuadro 12). En la mayoría de los períodos de captura, los adultos contribuyeron en mayor proporción a los valores de infección, a excepción de los períodos N-96 y SO-97, en los cuales los subadultos infectados fue la clase de edad predominante (Figura 15).

Cuadro 12. Prevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en *Didelphis virginiana* por período de captura en Dzidzilché, Yucatán durante el período abril 1996-mayo 1998.

Períodos	n	Positivos*	Negativos	Prevalencia (%)
<u>AM-96</u>	16	5	11	31.2
JJ-96	8	2	6	25
AS-96	4	1	3	33.3
<u>N-96</u>	18	10	8	55.5
<u>F-97</u>	19	8	11	42.1
<u>AM-97</u>	7	5	2	71.4
SO-97	9	5	4	55.5
<u>FM-98</u>	17	12	5	70.5
<u>AM-98</u>	31	23	8	74.1

Abreviaturas como en los cuadros 7 y 8. * incluye tlacuaches recapturados.

La recaptura de tlacuaches permitió detectar la conversión de negativo a positivo en la infección con *T. cruzi* en algunos animales. En el cuadro 13, se presentan las fechas de captura y recaptura de tres tlacuaches subadultos que adquirieron la infección durante los períodos N-96 y AM-97. Dos de los tlacuaches fueron capturados y recapturados en EC peridomésticas.

La mayoría de los tlacuaches infectados presentaron parasitemia muy baja (de dos a tres tripomastigotes en toda la muestra sanguínea), y en ocasiones ésta sólo pudo ser evidente por el método de microconcentración sanguínea o por el xenodiagnóstico. Además, en los períodos correspondientes a la época seca de cada año, se capturaron mas tlacuaches con parasitemias evidentes (examen directo positivo) ($\chi^2= 4.01$, $p<0.05$).

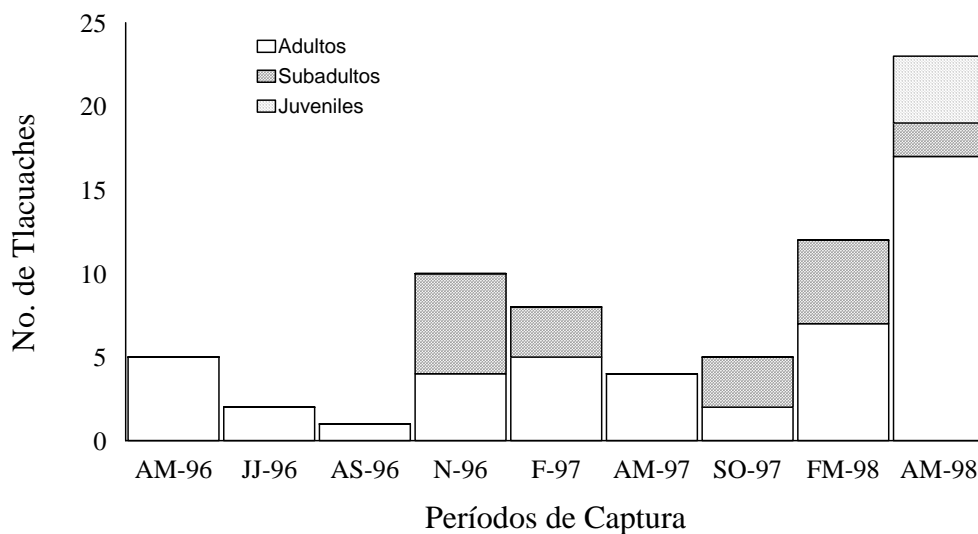


Figura 16. Distribución de tlacuaches infectados por clase de edad en los períodos de captura en Dzidzilché, Yucatán

Cuadro 13. Relación de tlacuaches que presentaron conversión en el diagnóstico de negativo a positivo, a la infección con *Trypanosoma cruzi* en Dzidzilché.

Clave-Sexo	Edad (meses)	Captura Fecha-Diagnóstico	Recaptura Fecha-Diagnóstico
Z41A1-♀	7	22 Nov 96-Negativo	3 Feb 97-Positivo
*Z46B3-♀	8	5 Feb 97-Negativo	17 Feb 97-Positivo
Z51B4-♂	8	20 Feb 97-Negativo	25 Abr 97-Positivo

*Se recapturó en dos ocasiones y se confirmó su conversión negativo-positivo, mediante microconcentración de sangre, inoculación de sangre y observación de amastigotes en corazón de ratones NIH inoculados.

La captura y recaptura de tlacuaches infectados se concentró significativamente en las EC peridomésticas ($\chi^2=110.37$ $p<0.05$), y todos los tlacuaches recapturados presentaron infección con *T. cruzi*. Las hembras, principalmente las reproductivas, constituyeron la población infectada que permaneció en el peridomicilio por lo menos durante seis meses, en algunos casos habitando la misma madriguera durante 75 días consecutivos. La mayoría de las hembras (67%) que se desplazaron únicamente de 250 a 500 metros en lapsos de tiempo de hasta siete meses, fueron hembras reproductivas infectadas.

El análisis microscópico del excremento y/u orina de los triatomas colectados en las madrigueras de los tlacuaches, reveló la infección con *T. cruzi* en triatomas de seis madrigueras localizadas en el área peridoméstica (Figura 12).

VIII.3.3. Infección con *Trypanosoma cruzi* en triatomas del domicilio y peridomicilio.

Aunque originalmente no se consideró la captura sistemática de triatomas, la gran colaboración de las familias del pueblo en la captura de estos insectos, permitió contar con registros sistemáticos de captura de triatomas durante todo el estudio. Esta información reveló que los picos de captura e infección de *T. dimidiata* con *T. cruzi*, ocurrieron en los períodos AM de los tres años estudiados (Figura 16).

VIII.3.4. Amastigotes de *Trypanosoma cruzi* en corazones de tlacuaches y ratones inoculados.

Se obtuvieron los corazones de 18 tlacuaches capturados en el último período de captura. El estudio histopatológico demostró la presencia de escasos nidos de amastigotes de *T. cruzi* en corazones de ocho tlacuaches previamente diagnosticados como positivos. Además, en estos tejidos no se encontró evidencias de lesiones importantes que sugieran algún daño histológico debidas a la infección con este parásito. Las lesiones encontradas correspondieron a lo reportado en otros estudios, esto es, áreas con inflamación leve e infiltración de

linfocitos y macrófagos (Araujo-Carreira *et al.*, 1996) (Figura 17). Por el contrario, en los corazones de ratones inoculados con heces de triatomas infectadas provenientes de 12 xenodiagnósticos de tlacuaches y en los ratones inoculados con sangre infectada, además de confirmarse la infección por la presencia de muchos nidos de amastigotes, se observaron áreas inflamadas con infiltraciones de células polimorfonucleares, y correspondieron a lesiones típicas observadas en una infección con *T. cruzi* en modelo murino (cita).

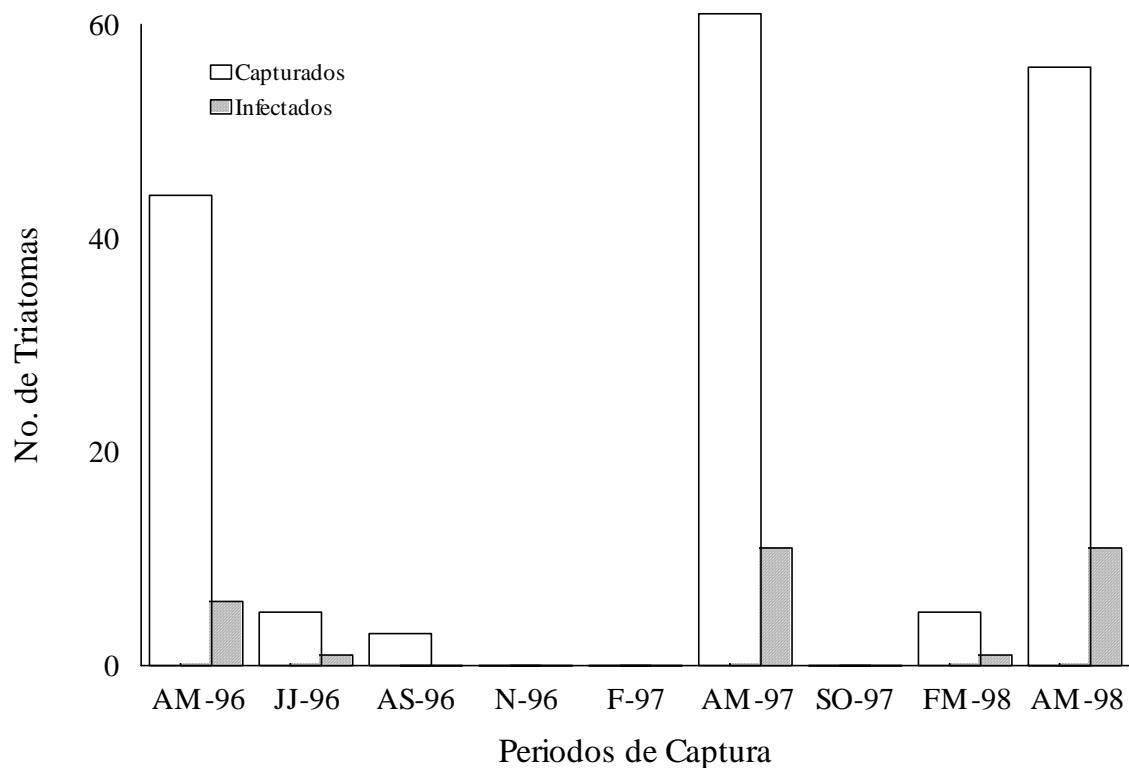


Figura 17. Distribución de la captura e infección con *Trypanosoma cruzi* en triatomas (*Triatoma dimidiata*) capturadas en domicilio y peridomicilio de Dzidzilché, Yucatán, durante el período abril 1996-mayo 1998.

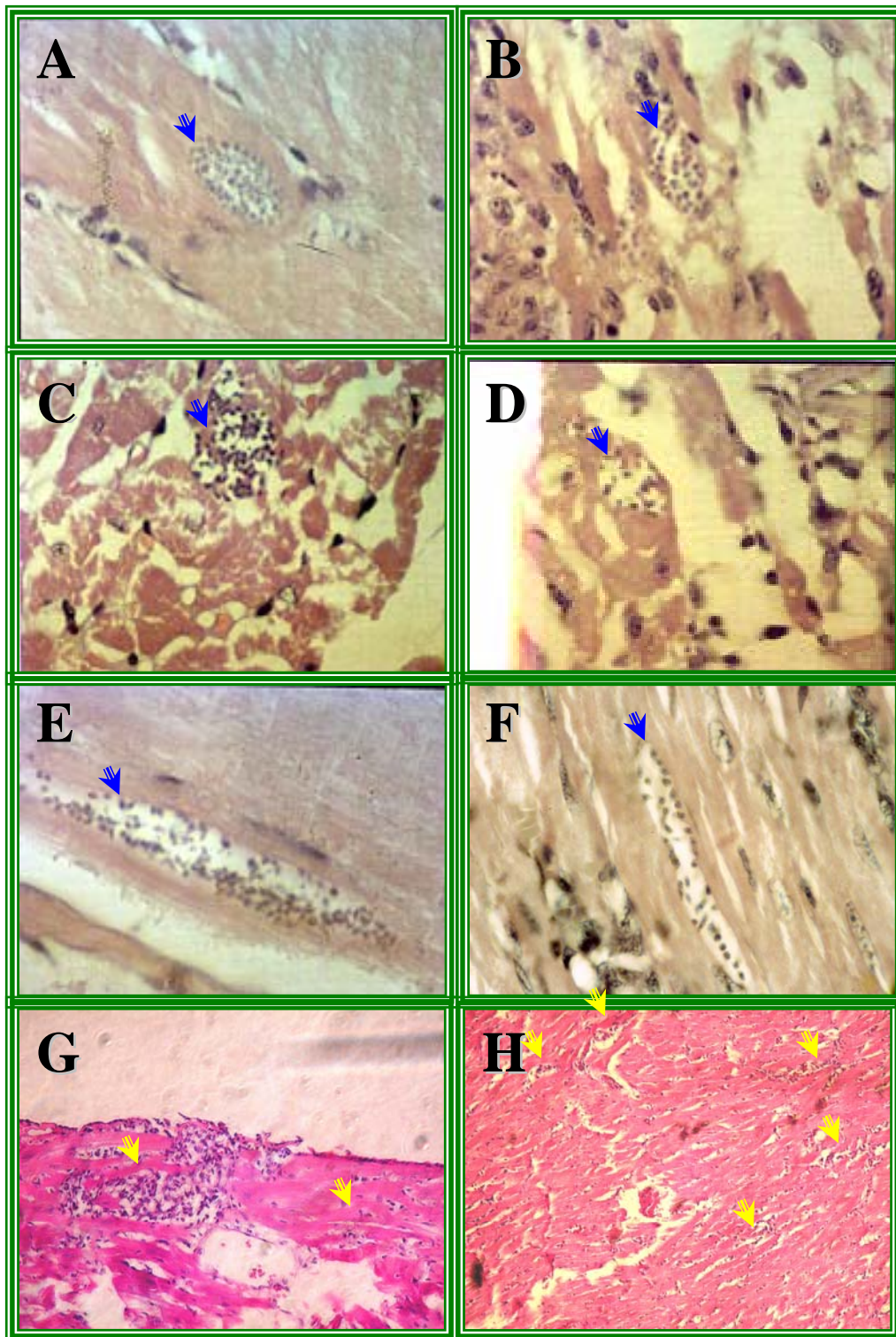


Figura 18. Nidos de amastigotes (flecha azul) de *Trypanosoma cruzi* encontrados en corazones de *Didelphis virginiana* (A-F) e infiltrados celulares (flecha amarilla) en corazón de ratones de laboratorio infectados con este parásito (G-H). Tinción HE X40.

IX. DISCUSIÓN

IX.1. Taxonomía de *Didelphis virginiana*

La variación en la coloración del pelaje de *D. virginiana* observada en este estudio ya había sido descrita por Gardner (1973), principalmente en áreas de simpatria con *D. marsupialis*. Este autor enfatizó en las diferencias morfológicas de sus cromosomas de ambas especies como caracter principal para su discriminación taxonómica. No obstante, para fines prácticos este mismo autor propuso el uso de caracteres adicionales como el patrón de coloración en el rostro, algunas medidas de proporción corporal y la morfología de algunos huesos del cráneo, para diferenciar *D. virginiana* y *D. marsupialis*. Sin embargo, el uso de los caracteres de coloración produjo mucha confusión en la presente investigación porque en varias ocasiones un mismo individuo presentó características externas “propias” de ambas especies. A pesar del énfasis de Gardner (1973) en las diferencias cromosómicas, en la práctica la identificación de los tlacuaches, tanto en estudios de campo o como en ejemplares de colecciones científicas, está basada en gran medida en el patrón de coloración del rostro y la morfología de los huesos craneales. Los resultados de este estudio, resaltan la importancia de la morfología de los cromosomas como el caracter de mayor confiabilidad para diferenciar *D. marsupialis* y *D. virginiana* en áreas simpátricas de su distribución.

Considerando lo anterior, resulta evidente la necesidad de reconsiderar información previa publicada reportando la identidad de los tlacuaches en zonas simpátricas de México. Al respecto, en el laboratorio de parasitología del CIR “Dr. Hideyo Noguchi”, se realizó un estudio sobre reservorios de *T. cruzi* en siete municipios de la Península de Yucatán durante el período 1990-1992 (Zavala *et al.*, 1996). En ese estudio, la identificación de los mamíferos se hizo siguiendo las características de coloración descritas por Gardner (1973), y todos los tlacuaches capturados en estos municipios fueron identificados como *D. marsupialis*. Con base en la subjetividad de los caracteres basados en la coloración del pelaje y en las proporciones corporales demostrada en el

presente estudio, es muy probable que en el estudio mencionado se hayan capturado tlacuaches de ambas especies, sin embargo, debido al desconocimiento de la gran variación en la coloración que presenta *D. virginiana* y por no haber considerado los caracteres cromosómicos para la identificación, la prevalencia de infección con *T. cruzi* en el mencionado estudio, fue asignada exclusivamente para *D. marsupialis*.

La correcta identificación taxonómica es un aspecto muy descuidado, en la mayoría de las investigaciones sobre reservorios de *T. cruzi* y otros patógenos zoonóticos. En muy pocos estudios de reservorios de *T. cruzi* se describen los criterios taxonómicos o la colaboración de mastozoólogos para la identificación de las especies estudiadas. En México, esta práctica ha permitido que algunas investigaciones presenten información errónea sobre la identidad de los reservorios, como es el caso de que en nuestro País se ha reportado la infección con *T. cruzi* en la ardilla *Sciurus vulgaris* (Tay *et al.*, 1969; Salazar-Schettino *et al.*, 1987), una especie cuya distribución geográfica abarca gran parte de Europa y el norte de Rusia (Hall, 1981).

IX.2 Diagnóstico de la infección

El xenodiagnóstico es uno de los métodos diagnósticos mas sensibles para detectar infecciones subclínicas con bajas parasitemias tanto en humanos como en animales silvestres (WHO, 1991; Jansen *et al.*, 1991). En este estudio, se confirma una vez más la sensibilidad de esta prueba para diagnosticar la infección con *T. cruzi* en reservorios silvestres. Algunos de los tlacuaches infectados de este estudio, se caracterizaron por presentar parasitemias muy bajas, mientras que en otros, ésta prácticamente no existía. Por lo tanto, de no haber realizado los xenodiagnósticos, la infección en algunos de estos tlacuaches no hubiera podido ser detectada por el examen directo o la microconcentración, subestimando así la prevalencia de infección de *D. virginiana* en Dzidzilché. La sensibilidad de los xenodiagnósticos realizados fue todavía mas evidente, porque solamente se utilizaron 5 triatomas por

prueba, cuando lo recomendado es usar de 20 a 30 insectos por prueba (WHO, 1991).

Evidentemente, en el ámbito biomédico existen otras herramientas diagnósticas muy sensibles como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), que es una prueba que puede detectar cantidades muy pequeñas del ADN de los patógenos (incluso muertos), prácticamente en cualquier muestra biológica (cita). Los resultados de un análisis comparativo entre el xenodiagnóstico y la PCR utilizando muestras de sueros colectados en este estudio (Dumonteil *et al.*, 2000), revelaron el ADN de *T. cruzi* en el suero de cinco tlacuaches considerados previamente negativos por xenodiagnóstico; sin embargo, la PCR no pudo detectar el ADN de *T. cruzi* en dos tlacuaches confirmados como positivos por el hallazgo de amastigotes en cortes de corazón. Este análisis comparativo, reafirma la necesidad de incluir mas de una prueba diagnóstica en futuros estudios con reservorios, siendo la PCR uno de ellos, para dar mayor confiabilidad a los resultados de infección con *T. cruzi* en mamíferos silvestres.

IX.3. Aspectos poblacionales de *Didelphis virginiana*.

El objetivo de estudiar los aspectos poblacionales de *D. virginiana*, fue el de determinar cuál o cuales de ellos le confieren importancia como reservorio de *T. cruzi* en el ciclo de transmisión peridomiciliar de este parásito. En los siguientes párrafos, se discutirán estos resultados con base en los criterios o características ecológicas que han sido señalados como requisitos para definir a cualquier animal como reservorio de agentes infecciosos (Cox, 1979; WHO, 1990; WHO, 1991).

Como se ha mencionado anteriormente, a excepción del período abril-mayo, el muestreo de tlacuaches no se realizó en los mismos períodos de los tres años que abarcó el estudio. No obstante, los resultados obtenidos en los tres períodos de abril-mayo estudiados, el análisis de información ecológica no publicada sobre tlacuaches en el estado de Yucatán (Zavala *et al.*, 1996), y tomando en

cuenta la estación climática de cada período estudiado, fue posible establecer tendencias en el comportamiento poblacional de *D. virginiana* en Dzidzilché, Yucatán. Las condiciones ecológicas presentes en la localidad de Dzidzilché son muy parecidas a aquellas que rigen localidades ubicadas en el norte y centro del estado de Yucatán. Por lo tanto, el comportamiento ecológico de *D. virginiana* encontrado en este trabajo bien puede ser extrapolado a estas regiones del Estado.

Captura y recaptura de tlacuaches.

El porcentaje de recaptura de tlacuaches obtenido en este estudio (26.6%) fue elevado considerando lo reportado en diversos trabajos previos, como el de Reynolds (1945) en Missouri, quien solamente logró recapturar cinco individuos de *D. virginiana* (todas hembras) de 68 animales capturados, representando el 7.3% de éxito de recaptura).

La mayor susceptibilidad de las hembras a la recaptura parece ser una constante en las poblaciones de marsupiales americanos (Nixon *et al.*, 1994; Reynolds, 1945; Fleming, 1972; Hamilton, 1958; Holmes y Sanderson, 1965), y algunos autores como Seidensticker *et al.*, (1987), se lo atribuyen a su baja dispersión en comparación con la de los machos. De acuerdo con estudios previos, en términos generales las poblaciones de *D. virginiana* no presentan predominancia de algún sexo, sin embargo, en Dzidzilché se observó la predominancia de las hembras en las capturas. Debido a que en las camadas de tlacuaches analizadas también se presentó una mayor proporción de hembras en la mayoría de ellas, es factible sugerir su predominancia en las poblaciones de tlacuaches del área de estudio. Sin embargo, en la presente investigación no es posible establecer las posibles razones de este comportamiento poblacional, pero seguramente serán tema de futuros estudios.

Como ya se mencionó con anterioridad, 25 tlacuaches fueron recapturados en 38 ocasiones y la mayoría de estas recapturas ocurrieron en EC peridomésticas (figura). De estas recapturas, 24 (63.1%) ocurrieron en dos o mas EC

diferentes, y las otras 14 (36.9) en la misma EC donde fueron capturados por primera vez. Solamente dos tlacuaches fueron recapturados en 3 EC y uno en 4 EC diferentes. Por este bajo número de recapturas individuales, en este estudio no fue posible obtener estimaciones confiables del ámbito hogareño de *D. virginiana* en Dzidzilché, ya que se requieren un mínimo de 5 recapturas para poder hacer cálculos confiables del ámbito hogareño de los tlacuaches (Fitch y Sandidge, 1953; Cáceres, 2003). Sin embargo, analizando el desplazamiento entre las EC y el tiempo en que ocurrieron las recapturas, sobre todo las de las mismas EC, se puede señalar si los tlacuaches capturados eran o no residentes en la población.

El hecho de que estos animales no hayan sido recapturados en más de dos estaciones de colecta diferentes, podría ser un indicio de un ámbito hogareño muy pequeño. Puesto que la mayoría o casi todos estos tlacuaches recapturados fueron hembras con embriones, hace suponer que este comportamiento de permanecer en áreas muy reducidas (250-300 m) sea solamente aplicable a las hembras en la época reproductiva. En mamíferos es muy común que las hembras se desplacen menos que los machos, sobre todo cuando se encuentran al cuidado de las crías (citas).

En este estudio, los tlacuaches recapturados permanecieron en el área hasta por tres meses (94 días). A pesar de su comportamiento nómada, las poblaciones de tlacuaches pueden permanecer en áreas determinadas hasta por períodos de tres meses, principalmente las hembras (Fleming, 1972; Gillette, 1980), hecho que en este trabajo fue confirmado para *D. virginiana* en Dzidzilché. Aunque la dispersión de hembras reproductivas ha sido observada en otros estudios (Nixon *et al.*, 1994; Gillette, 1980), en Dzidzilché la presencia de crías en el marsupio fue un factor que determinó una mayor permanencia de las hembras de *D. virginiana* en el peridomicilio de las viviendas del área de estudio. Una de las principales razones que se han señalado para explicar la dispersión de hembras con crías, es para repoblar áreas despobladas de tlacuaches (Nixon *et al.*, 1994; Gillette, 1980), probablemente en la región estudiada no sea

necesaria todavía esta dispersión y las hembras prefieran permanecer mas tiempo en sus madrigueras para alimentar, proteger y entrenar a sus crías.

Una de los rasgos característicos de los tlacuaches y que generalmente se resalta en las descripciones de estos mamíferos, es el comportamiento nómada que presentan sus poblaciones. Sin embargo, en la literatura existe suficiente evidencia para considerar muy seriamente el término “nómada” en el caso de los tlacuaches. Al respecto, algunos autores han demostrado que *D. virginiana* presenta individuos con características residentes de por lo menos un año, tal es el caso del estudio de Wiseman y Hendrickson (1950), quienes recapturaron tres tlacuaches prácticamente en el mismo lugar donde habían sido capturados por primera vez un año antes. Otros como Fitch y Sandidge (1953), consideran a *D. virginiana* como un animal predominante y con una población residente en su área de estudio, aunque no encontraron evidencia de territorialidad. De acuerdo con el Diccionario Enciclopédico Océano 1996, nómada significa “individuo o grupo que se desplaza continuamente para asegurar su sobrevivencia”, por lo menos en esta definición no se especifica la frecuencia del desplazamiento, si éste debe ocurrir en días, meses o años.

Características Reproductivas de *D. virginiana*.

Los primeros apareamientos del año de las hembras estudiadas ocurrieron en el mes de febrero (hembras del período F-98), y los últimos, tuvieron lugar a finales de mayo (hembras del período JJ-96) (Anexo I). Mas del 80% de los apareamientos tuvo lugar en el mes de marzo de los tres años estudiados, hecho que refleja una buena sincronía en la actividad reproductiva de *D. virginiana* en Yucatán. De acuerdo con el climograma de Dzidzilché, es evidente que *D. virginiana* se reproduce en los meses de calor y los últimos meses de la época seca. La fructificación de árboles como el mango, el zapote y el ciruelo en esta época del año (Flores y Espejel, 1996), garantizan a las hembras sustento tanto para sí mismas como para sus crías. Por lo tanto, la abundancia de estos árboles en el peridomicilio o en áreas cercanas, probablemente sea un factor que

determine un incremento en la actividad reproductiva de *D. virginiana* en Dzidzilché.

El patrón reproductivo de *D. virginiana* en Dzidzilché, es muy similar a lo reportado para poblaciones de otras latitudes del continente Americano. Otros marsupiales americanos como *D. marsupialis*, *Philander opossum* y *Marmosa robinsoni*, también presentan una estacionalidad en su época reproductiva en Panamá, donde los juveniles y subadultos son mas abundantes en el período comprendido entre junio y diciembre (Fleming, 1972). Como por ejemplo, en las poblaciones de *D. virginiana* en California, Estados Unidos, más del 80% de 54 hembras capturadas entre febrero y marzo presentaron crías en el marsupio (Reynolds, 1952). Este mismo autor en un estudio realizado en Missouri, estableció que la temporada reproductiva de *D. virginiana* en el centro de Missouri, se extiende desde febrero hasta septiembre, donde observó el nacimiento de 43 camadas desde el febrero hasta junio. Aunque no recapturó hembras con segundas camadas, Reynolds (1945) consideró que los nacimientos ocurridos en el período mayo y junio fueron las segundas camadas de la estación. El patrón reproductivo de *D. virginiana* en áreas opuestas como en el este de Texas y sureste de Iowa, aunque también inicia en febrero, es mas corto ya que no se encontró evidencia de actividad reproductiva después del mes de julio (Lay, 1942; Wiseman y Hendrickson, 1950). Nixon *et al.*, (1994) encontraron crías en el marsupio de hembras de *D. virginiana* en Illinois solamente en el período abril-junio, resultados muy similares a los de este estudio.

Con relación a la producción de camadas, no se encontró ninguna hembra que haya producido dos camadas en el mismo año, solamente una hembra produjo dos camadas pero en diferentes años. Sin embargo, a partir de las fechas de apareamiento estimadas y la condición de la bolsa marsupial de aquellas hembras que no presentaron embriones (Anexo), es probable que en Dzidzilché se puedan producir dos camadas al año. De acuerdo con Reynolds (1952), las

hembras de *D. virginiana* que producen camada en el primer ciclo estral del año experimentan otro ciclo entre 89 y 105 días después del nacimiento de la primera camada. Por lo tanto, las hembras de este estudio que se aparearon en Febrero (períodos Marzo y Abril-Mayo de 1998), podrían aparearse nuevamente y producir una segunda camada en Junio, tal y como se encontró en este estudio al capturar una hembra con embriones en Junio de 1996 (período Junio-Julio 1996) (Anexo). La captura de hembras con crías en los meses de julio y agosto en tres localidades de la Península de Yucatán, reportado por Jones *et al.*, (1974), confirman la producción de por lo menos dos camadas al año en la Península de Yucatán.

Madrigueras de tlacuaches. Sinantropía de *D. virginiana* en Dzidzilché.- La presencia de tlacuaches en el entorno humano, es un hecho muy común en muchos países latinoamericanos, así como también en los Estados Unidos. Sin embargo, la colonización y permanencia de estos mamíferos en el hábitat peridoméstico son aspectos que han sido poco explorados en los pocos estudios que se han llevado a cabo sobre tlacuaches en México, a pesar de su potencial relevancia en el establecimiento de ciclos de transmisión urbanos o rurales de enfermedades zoonóticas. En el presente trabajo se demostró el comportamiento sinantrópico de *D. virginiana* en la localidad de Dzidzilché, ya que la población de tlacuaches no sólo estuvo concentrada en el peridomicilio, sino que además una proporción de ésta (principalmente hembras reproductivas), presentó características de residente al ser frecuentemente recapturada en este hábitat en un rango que fluctuó desde 57 hasta 220 días. Como es bien sabido, los tlacuaches americanos durante su historia evolutiva han desarrollado una capacidad única de adaptación a cambios ambientales drásticos, como por ejemplo las glaciaciones pleistocénicas (Gardner, 1973).

Desplazamiento de *Didelphis virginiana*

Fitch y Sandidge (1953), tuvieron bajas capturas de tlacuaches, capturaron 117 animales a los cuales recapturaron 276 veces en períodos cortos durante 1949-1952. La recaptura de 25 tlacuaches ocurrió solamente en un período de uno a dos meses, y la de otros 24 ocurrió en un período mayor a los dos meses. Con base en estos resultados, los autores argumentan que la razón de la baja recaptura podría ser explicada porque muchos tlacuaches se encontraban en los límites de su ámbito hogareño el cual solapaba el área de captura; como consecuencia, la probabilidad de recapturarlos era muy baja. Con base en el registro de 22 tlacuaches recapturados en dos estaciones de captura diferentes, los autores encontraron una distancia promedio de 232 recorrida por los machos (7) y de 247 m por las hembras (15). Con esta información se estableció un ámbito hogareño de aproximadamente de 17 ha. Con base en el registro de 10 tlacuaches recapturados en tres estaciones de captura diferentes, los autores encontraron una distancia promedio de 256 m para todos los individuos. Con base en el registro de 5 tlacuaches recapturados en cuatro estaciones de captura diferentes, los autores encontraron una distancia promedio de 309 m para todos los individuos. En general, para estos 27 tlacuaches la distancia promedio recorrida entre estaciones de captura fue de 249 m., con base en la cual los autores asumen un ámbito hogareño de 19.4 ha. Lay (1942) encuentra evidencia para argumentar que casi la mitad de la población de tlacuaches de un área determinada son nómadas. Entre las causas del desplazamiento de estos animales este autor comenta dos factores importantes, la disponibilidad estacional del alimento y los cambios en la disponibilidad del agua. Sin embargo, el registro de una hembra recapturada 48 veces en un período de nueve meses, mostró un comportamiento nómada (vagabundo) inicial, y posteriormente su dispersión fue de tipo residente.

El ámbito hogareño de aquellos tlacuaches que fueron recapturados repetidamente en Dzidzilché, muy probablemente estuvo incluido completamente en el área de estudio. Sin embargo, es recomendable, para tener

información mas confiable sobre estoe aspecto, obtener un mayor número de registros de recapturas (mas de 5 por ejemplo). La dispersión de tlacuaches de su ámbito hogareño ocurre frecuentemente, contribuyendo así a un rápido recambio casi total de la población en el plazo de un año en un área menor a las 259 ha.

IX.4 Transmision peridomestica de *Trypanosoma cruzi* entre *Didelphis virginiana* y *Triatoma dimidiata* en Dzidzilché.

La estructura poblacional de *D. virginiana* es otro factor que tuvo influencia en la estacionalidad de la infección. Por ejemplo, los tlacuaches adultos fueron la proporción de la población mas infectada durante los meses secos del año, principalmente de febrero hasta mayo. En el resto del año, los juveniles se convirtieron en una fuente potencial de infección para los triatomas a partir de agosto hasta noviembre (Figura 15). Estos hallazgos constituyen evidencia importante para demostrar la influencia de la estructura poblacional de *D. virginiana* en la prevalencia de infección con *T. cruzi* en el área de estudio. Resultados similares fueron obtenidos con *D. marsupialis* en Venezuela (Telford y Tonn, 1982), quienes estudiaron aspectos tales como dinámica y densidad poblacional, hábitos alimentarios, reproducción, patrón de movimiento y área de dispersión, entre otros.

Mención especial merecen las hembras cuyo desplazamiento estuvo influenciado por su estado reproductivo, confirmando lo reportado por (Hossler *et al.*, 1994) quienes encontraron que las hembras no se alejan mucho de sus madrigueras cuando tienen crías y se encuentran próximas al destete. Este hecho explicaría que el poco desplazamiento que presentaron pudo deberse al hecho de permanecer cerca de sus madrigueras peridomésticas para el cuidado de sus crías. Este comportamiento tuvo importantes implicaciones en la transmisión peridoméstica de *T. cruzi* en Dzidzilché: en primer lugar, explica el hecho de que la hembras reproductivas tuvieron los mayores porcentajes de

infección y de que algunas de estas hembras presentaron infecciones recientes (examen directo positivo). Al prolongarse el tiempo de ocupación de una sola madriguera por hembras con crías, aumenta la probabilidad del contacto con triatomas infectadas y, por ende, de la transmisión de la infección. En segundo lugar, si el contacto tlacuache-triatoma, o colonización de la madriguera por triatomas, es frecuente y constante durante todo el año, entonces podemos afirmar la existencia de un ciclo de transmisión activo en el área de estudio. Este contacto y la colonización de madrigueras de tlacuaches por triatomas infectadas, fue demostrado en este estudio por el hallazgo de tlacuaches y triatomas (adultos y ninfas) infectados en madrigueras peridomésticas (Figura 12). Al respecto, Zeledón *et al.*, (1970), examinaron madrigueras de *D. marsupialis* establecidas en troncos de árboles en Costa Rica, y encontraron colonización por *T. dimidiata* en aproximadamente el 10% de las mismas; estos troncos son refugios comunes de *T. dimidiata*. La prevalencia de infección por *T. cruzi* en los triatomas de las madrigueras fue del 22%. Estos datos confirman que los triatomas asociados con tlacuaches infectados, muestran altos índices de infección con *T. cruzi*.

Por lo tanto, la población peridoméstica de *D. virginiana*, especialmente las hembras con crías, constituye una fuente importante de infección para los triatomas, manteniéndose así el ciclo de transmisión del parásito en el peridomicilio de Dzidzilché. Este mismo comportamiento epidemiológico ocurre con *D. albiventris* en algunas regiones de Argentina, donde de acuerdo con Schweigmann (*in* Rabinovich *et al.*, 2001), la frecuencia de infección es mayor en las hembras, donde los machos aparentemente presentan mayor resistencia a la infección experimental con *T. cruzi*. La mayor relevancia de las hembras como la proporción poblacional de los tlacuaches mas importante en la transmisión de *T. cruzi*, ha sido señalada en otros estudios e incluso, se han diseñado modelos probabilísticos basados en datos exclusivos de hembras de *D. albiventris* (Rabinovich *et al.*, 2001).

La ingesta de triatomas infectadas con *T. cruzi* es una vía de adquisición de la infección para los tlacuaches (Yaeger, 1971). A pesar de que en los restos de heces de tlacuaches revisados no se encontraron restos de triatomas, no se descarta la posibilidad de que esta vía de infección se esté dando, sobre todo si se ha demostrado que estos mamíferos incluyen insectos en su dieta (Cordero y Nicolas, 1987). Muy probablemente el bajo número de muestras estudiadas pudo haber influido en el resultado.

IX.5. Estacionalidad de la transmisión de *Trypanosoma cruzi* entre *Didelphis virginiana* y *Triatoma dimidiata* en Dzidzilché.

Otro de los hallazgos importantes de este estudio fue que por primera vez en México, se demostró la estacionalidad en la transmisión de *T. cruzi* entre tlacuaches y triatomas, que está regida por la dinámica poblacional de ambos grupos animales en respuesta a las condiciones climáticas de la región. Esta estacionalidad en la transmisión fue demostrada por los siguiente hallazgos; 1) la coincidencia en la abundancia de los tlacuaches y de los triatomas en el período de secas (Figura 16), 2) la coincidencia en los picos de infección de tlacuaches y triatomas también en la época de secas del año (Figura 16), 3) en esta misma época se capturaron mas tlacuaches con infecciones recientes, y 4) la conversión de negativo a positivo de tres tlacuaches en el período noviembre-febrero (Cuadro 13).

La estacionalidad de las lluvias, comunes de regiones tropicales como la Península de Yucatán, rigen muchos eventos biológicos, entre ellos la dinámica poblacional de los animales. La correspondencia en el incremento poblacional del vector y el reservorio de *T. cruzi* encontrada en el estudio, definitivamente establece ciclos de transmisión de la infección activos durante los meses de sequía. El incremento en la abundancia de triatomas adultos domiciliarios en los meses calurosos y secos del año (marzo-mayo), es algo que los habitantes de las áreas rurales de Yucatán conoce muy bien, y que sin

embargo, no se había reportado en estudios previos. Por ejemplo, Quintal (1974), capturó 4019 triatomas en el área henequenera del estado de Yucatán en el período de junio a diciembre, con una mayor captura de agosto a noviembre. No obstante, debido a los diferentes esfuerzos de captura y a que no se cubrió un período anual, este autor no consideró esta información como representativa del área. En otro estudio, Guzmán *et al.*, (1992), realizaron capturas de triatomas en siete municipios del estado de Yucatán durante un ciclo anual, sin embargo, los autores no reportaron diferencias en la captura por mes o estación climática.

Por lo tanto, en el presente estudio se hizo evidente la influencia del régimen climático de la región sobre la dinámica poblacional de tlacuaches y triatomas. Aunque los habitantes de Dzidzilché no realizaron una búsqueda intensiva de triatomas, los resultados obtenidos son representativos para la población adulta de triatomas del estado de Yucatán puesto que en un estudio reciente se encontró un patrón de abundancia de triatomas similar en varias localidades de la Península de Yucatán (Dumonteil *et al.*, 2003).

La transmisión estacional de otros protozoarios de importancia en salud ha sido demostrada en otros estados del territorio mexicano. Estudios epidemiológicos de la leishmaniasis cutánea localizada realizados en el estado de Campeche en la Península de Yucatán, demostraron la estacionalidad en la transmisión de *L. mexicana* al encontrar coincidencia en la abundancia del vector (Rebollar-Téllez *et al.*, 1996), infección en roedores (Chablé-Santos *et al.*, 1995) y casos humanos (Albertos *et al.*, 1995), en los meses de noviembre a marzo. En sudamérica, Travi *et al.*, (1998) encontraron mayor concentración de tlacuaches y vectores infectados con *Leishmania chagasi* al final de la época de lluvias en Colombia.

Los tlacuaches cubren prácticamente todos los requisitos ecológicos y biológicos de un reservorio primario de *T. cruzi*, en por lo menos dos ciclos de transmisión de este parásito, el ciclo silvestre y peridomiciliar, además de participar en la dispersión de la infección desde el área selvática al peridomicilio (Zeledón, 1971). Algunos de las características que los definen como reservorios se elistan a continuación:

1. La amplia distribución geográfica que presentan.
2. Su extraordinaria adaptabilidad al peridomicilio humano.
3. La capacidad prolífica de estos animales.
4. La relación huésped-parásito que tiene con *T. cruzi*, es de las mas antiguas que se conocen entre los mamíferos.
5. La estrecha relación huésped-vector.

La estrecha relación entre los tlacuaches con los triatomas se ve reflejada en el hecho de que representan la principal fuente de alimentación para muchas especies de triatomas presentes en el continente Americano. Un análisis reciente de la literatura sobre el tema, revela que el 80% de las especies de triatomas se han alimentado por lo menos en alguna ocasión de sangre de tlacuaches (Carcavallo et al., 1998). Este hecho podría ser una de las principales razones por las estos mamíferos presentan prevalencias de infección tan elevadas, que en algunas áreas endémicas alcanzan el 100%. En algunas regiones de centro y sudamérica, las tasas de infección de las principales especies de triatomas son generalmente tan bajas (hasta del 1%), que no es posible responsabilizar solamente a estos insectos de la infección de los tlacuaches. Entre algunas explicaciones o teorías se han argumentado para resolver este misterio, se mencionan la existencia de una transmisión vía glándula anal de las madres a la descendencia, su elevada susceptibilidad de infección y a su alta probabilidad de infección con *T. cruzi*.

X. CONCLUSIONES.

La convivencia entre el tlacuache y los asentamientos humanos trae consigo diversos riesgos de transmisión de agentes causales de infecciones propias de estos animales y transmisibles a la población humana, como el caso de *T. cruzi*. La relación entre la elevada prevalencia de infección por *T. cruzi* en tlacuaches con la presencia de focos endémicos de la Enfermedad de Chagas ya ha sido previamente documentada en países sudamericanos (Herrera y Urdaneta, 1992; Zeledón *et al.*, 1970; Travi *et al.*, 1994). Los parámetros ecológicos constituyen herramientas esenciales para conocer la importancia de las especies silvestres como reservorios de enfermedades de importancia en salud pública (Lord, 1970, WHO, 1991). Siendo esta enfermedad una zoonosis, el estudio de las dinámicas poblacionales humanas y animales, es un requisito indispensable para conocer el comportamiento y dispersión de la infección, que aportarán información básica para desarrollar programas de control y prevención de la transmisión a los humanos.

En el caso de *D. virginiana*, la biología y ecología de poblaciones han sido bien estudiados en Norteamérica (McManus, 1974) y en mucho menor escala en *D. marsupialis* en Centro y Sudamérica (Sunquist, *et al.*, 1987; Telford *et al.*, 1979; Flemming, 1973). Sin embargo, en México poco énfasis se había hecho en los estudios biológicos y ecológicos para evaluar la importancia de los mamíferos silvestres, como reservorios de *T. cruzi*.

En este estudio, se demostró la influencia de varios aspectos ecológicos de *D. virginiana* en el mantenimiento de un ciclo peridomiciliar de *T. cruzi*. En primer lugar, aunque es bien conocido el comportamiento nómada de los tlacuaches, el desplazamiento de las hembras disminuye en la época reproductiva pudiendo permanecer en el área de estudio desde uno o dos meses consecutivos hasta por 356 días (cuadro). Este comportamiento es muy importante en el ciclo de transmisión peridomiciliar del parásito ya que el insecto vector tendría un período adecuado para adquirir la infección al alimentarse con sangre de tlacuaches peridomiciliares. De esta

manera, el desplazamiento de las hembras es un factor que tendría una contribución importante en el mantenimiento de un ciclo peridomiciliar de *T. cruzi*. Sin embargo, la metodología utilizada para evaluar el desplazamiento de los tlacuaches no permite conocer su patrón de desplazamiento ni tampoco conocer con precisión el ámbito hogareño de los animales. Con los datos de captura-recaptura obtenidos no se puede afirmar que los tlacuaches recapturados permanecieron todo este tiempo en el área de estudio, ya que pudieron emigrar y regresar después de algún tiempo, o que sus ámbitos hogareños son tan grandes que se traslapan con la de otros animales. Una herramienta muy utilizada y efectiva para conocer y evaluar aspectos ecológicos de vertebrados silvestres es la telemetría. Esta técnica determina la ubicación de los animales por medio del uso de un radioreceptor y una antena que recibe la señal de un radiotransmisor localizado en el cuerpo del animal (Mech, 1983). Dos ventajas importantes de la telemetría es que puede ubicar de manera precisa a individuos y también permite localizar a cada individuo tantas veces como sea necesario. Por lo tanto, la telemetría es un método de elección para el estudio de reservorios de agentes infecciosos que permitiría obtener información mas detallada y precisa del desplazamiento y el uso del territorio de los tlacuaches.

En este estudio, no sólo se ratificó la infección de *D. virginiana* con *T. cruzi* ya previamente reportada en Chiapas (Domínguez *et al.*, 1990) sino que, siguiendo criterios ecológicos de la Organización Mundial de la Salud (WHO, 1991), se demostró por primera vez que *Didelphis virginiana* es un reservorio sinantrópico de *T. cruzi* en el estado de Yucatán. A pesar de que el área de estudio fue relativamente pequeña, los resultados obtenidos en este estudio demuestran la utilidad de esta metodología básica con un enfoque poblacional. El siguiente paso es integrar esta metodología a proyectos multidisciplinarios que cubran mayores áreas geográficas como la Península de Yucatán, y que involucren todos los aspectos epidemiológicos de la Enfermedad de Chagas, incluyendo la seroprevalencia de infección en humanos. Estos proyectos tendrían como objetivo principal establecer áreas geográficas de mayor riesgo de transmisión del parásito a las poblaciones humanas

presentes, con base en las tasas de infección y los aspectos ecológicos tanto de los insectos vectores como de los mamíferos reservorios. Un reservorio puede ser definido como una o más poblaciones epidemiológicamente conectadas o medioambientes en los cuales el patógeno puede ser permanentemente mantenido y de los cuales la infección es transmitida hacia la población blanco (Haydon *et al.*, 2002). Dado un sistema reservorio-población blanco, las políticas para manejar la infección podrían contener elementos de tres estrategias diferentes: 1) control de la población blanco, al dirigir los esfuerzos entre la población blanco sin consideración del reservorio (por ejemplo, la vacunación humana contra la fiebre amarilla); 2) estrategias de bloqueo, al concentrar los esfuerzos de control en bloquear la transmisión entre las poblaciones fuente y blanco (por ejemplo, construcción de cercas para controlar la infección por foot and mouth disease virus en el ganado) y 3) control del reservorio, controlando la infección en el reservorio mediante programas de sacrificio, vacunación y/o tratamiento de los reservorios. Estas tres estrategias requieren de un incremento progresivo en los niveles de entendimiento de la estructura y función de reservorio (Haydon *et al.*, 2002).

En resumen, en nuestro País se ha investigado poco el papel de los reservorios de *T. cruzi* y de la escasa información generada hasta la fecha, la mayoría es poco confiable. Por lo tanto, para llenar esta laguna de conocimiento en la epidemiología de la Enfermedad de Chagas y generar información confiable para avanzar hacia propuestas de control, es necesario que los proyectos de investigación integren expertos en diversas disciplinas, algo que hasta la fecha no se ha logrado en México pero que definitivamente le dará mayor relevancia y calidad a la investigación, principalmente en aquellas zoonosis con tanta complejidad como lo es la Enfermedad de Chagas.

XI. LITERATURA CITADA

ACHA P. y B. SZYFRES. 1986. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Publicación Científica No. 503, 2ª Ed. Organización Panamericana de la Salud, 989 pp.

AGUIRRE-PEQUEÑO, E. 1947. Presencia de *Trypanosoma cruzi* en mamíferos y triatomídeos de Nuevo León, Monterrey, México. Archivos Médicos Mexicanos, 8:359-363.

ALBERTOS, A.N., G.A. VARGAS, L.S. CANTO y F. ANDRADE. 1995. Índice endémico para leishmaniasis cutánea en Campeche, México. Congreso Nacional de Investigación en Salud Pública, 6, Cuernavaca, Morelos.

ALLEN, J.A. 1901. A preliminary study of the North American opossums of the genus *Didelphis*. Bull. Amer. Mus. Nat. Hist., 14:149-195.

ALLEN, J.A. 1902. A preliminary study of the South American opossums of the genus *Didelphis*. Bull. Amer. Mus. Nat. Hist., 16:249-279.

ARAUJO-CARREIRA, J.C., A.M. JANSEN, M.P. DEANE, y H.L. LENZI. 1996. Histopathological study of experimental and natural infections by *Trypanosoma cruzi* in *Didelphis marsupialis*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 91(5):609-618.

AUSTAD, S.N. 1988. The adaptable opossum. Scientific American, 258(2):54-59.

BARR, S.C., C.C. BROWN, V.A. DENNIS, y T.R. KLEI. 1991. The lesions and prevalence of *Trypanosoma cruzi* in opossums and armadillos from southern Louisiana. J. Parasitol., 77(4):624-627.

BARRERA-PEREZ M.A.; M.E. RODRIGUEZ-FELIX; E. del S. GUZMAN-MARIN y J.E. ZAVALA-VELAZQUEZ. 1990. Enfermedad de Chagas en el estado de Yucatán. Revisión de casos clínicos en fase aguda de 1970 a 1989. Revista Biomédica, 1:185-195.

BARRETTO, M.P. 1985. Reservorios del *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*, Chagas-1909. Pgs. 275-288 In Factores Biológicos y Ecológicos en la enfermedad de Chagas. Tomo II (Carcavallo, R., J.E. Rabinovich y R.J. Tonn, eds.). Buenos Aires, Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud (OPS/OMS)/Servicio Nacional de Chagas, de la República Argentina. pgs. 251-472.

BIRNEY, E.C., J.B. BOWLES, R.M. TIMM, y S.L. WILLIAMS. 1974. Mammalian distribution records in Yucatan and Quintana Roo, with comments on reproduction, structure and status of peninsular population. Occas. Papers Bell. Mus. Nat. Hist., Univ. Minnesota, 13:1-25.

- BLUMENTHAL, E.M. y G.L. KIRKLAND. 1976. The biology of the opossum, *Didelphis virginiana* in southcentral Pennsylvania. Proc. Penn. Sci., 50:81-85.
- BRENER, Z., y A.U. KRETTLI. 1990. Immunology of Chagas' disease. In: Modern Parasite Biology. Cellular, Immunological and Molecular Aspects (Wyler, D.J. ed.). W.H. Freeman and Company. New York, 428 pp.
- CAÑEDA, I.C. 1997. Parásitos de tres especies de marsupiales de la Estación de "Los Tuxtlas" y algunas zonas cercanas, Veracruz, México. Tesis de Licenciatura. UNAM. México, D.F. 193 pp.
- CARCAVALLO, R. U., D.S. ROCHA, I.G. GIRON, I.A. Sherlock; C. GALVAO, A. MARTINEZ; R.J. TONN, E. CORTON. 1998. Feeding sources and patterns. En: CARCAVALLO R.U., I GALINDEZ GIRON, J. JURBERG, H. LENT. (Editores). Atlas of Chagas disease vectors in the Americas. 1 ed. Rio de Janeiro, Editora FIOCRUZ, Vol. II, p. 537-560.
- CORDERO, G.A., y R.A. NICOLAS. 1987. Feeding habits of the opossum (*Didelphis marsupialis*) in northern Venezuela. Fieldiana Zoology, 39:125-131.
- CHABLÉ-SANTOS, J.B., N.R. VAN WYNSBERGHE, L.S. CANTO-LARA y F.J. ANDRADE-NARVÁEZ. 1995. Isolation of *Leishmania (L.) mexicana* from wild rodents and their possible role in the transmission of localized cutaneous leishmaniasis in the state of Campeche, Mexico. *Am J Trop Med Hyg*, 53: 141-145.
- 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 mórbida do homem. Mem. Inst. Osw. Cruz, 1:159-218.
- DEANE, M.P. y A.M. JANSEN. 1988. From a mono to a digenetic life-cycle: How was the jump for flagellates of the family Trypanosomatidae?. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 83(3):273-275.
- DEBLASE, A.F. y R.E. MARTIN. 1981. A manual of Mammalogy, with keys to families of the world. Wm. C. Brown Company Publishers, 2^a Ed.
- DIAS, E., T.G. PERRIN y M. BRENES. 1947. Nota previa sobre las primeras comprobaciones serológicas de la Enfermedad de Chagas en México. Gaceta Médica de México, 77:180-183.
- DIGBY, P.G.N. y R.A. KEMPTON. 1987. Multivariate Análisis of Ecological Communities. Chapman and Hall LTD, New York. 206 pp.
- DOMINGUEZ VAZQUEZ, A. y E. ESPINOZA MEDINILLA. 1988. Estudio de reservorios silvestres de *Trypanosoma cruzi* en el estado de Oaxaca, México. Bol. Chil. Parasitol., 43:64-65.

- DOMÍNGUEZ-VÁZQUEZ, A., J.R. RICÁRDEZ-ESQUINCA y E. ESPINOZA-MEDINILLA. 1990. Estudio de reservorios silvestres del *Trypanosoma cruzi* en la reserva ecológica de “El Zapotal”, Chiapas, México. Bol. Chil. Parasitol., 45:8-12.
- DORN, P.L., S. SELGEAN, y M. GUILLOT. 1996. Simplified method for Preservation and Polymerase Chain Reaction-amplification of *Trypanosoma cruzi* DNA in human blood. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 92(2):253-255.
- DUMONTEIL, E., H.A. RUIZ-PIÑA Y M.J. RAMIREZ-SIERRA. 2000. Infección por *Trypanosoma cruzi* en *Didelphis virginiana* determinada por xenodiagnóstico y reacción en cadena de la polimerasa. Revista Latinoamericana de Microbiología, 42 (Suplemento):568.
- DUMONTEIL, E., S. GOURBIERE, M.BARRERA-PEREZ, E. RODRIGUEZ-FELIX, H.A. RUIZ-PIÑA, O. BAÑOS-LOPEZ, M.J. RAMIREZ-SIERRA, F. MENU Y J. RABINOVICH. 2002. Geographic distribution of *Triatoma dimidiata* and transmission dynamics of *Trypanosoma cruzi* in the Yucatan Peninsula of Mexico. Am. J. Trop. Med. Hyg., 67(2):176-183.
- FERNANDES, A.J., L. DIOTAIUTI, J.C.P. DIAS, A.J. ROMANHA y E. CHIARI. 1989. Infecção natural das glândulas anais de gambás (*Didelphis albiventris*) pelo *Trypanosoma cruzi* no município de Bambuí-MG. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 84(1):87-93.
- FITCH, H.S. y H.W. SHIRER. 1970. A radiotelemetric study of spatial relationships in the opossum. Am. Mid. Nat., 84(1):170-186.
- FLEMING, T.H. 1973. The reproductive cycles of three species of opossums and other mammals in the Panama canal zone. J. Mamm., 54(2):439-455.
- FLORES, J.S y I. ESPEJEL. 1994. Tipos de Vegetación de la Península de Yucatán. Etnoflora Yucatanense, Fascículo 3. Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, México. 135 pp.
- GALAVIZ-SILVA, L. y J.M. ARREDONDO-CANTÚ. 1992. Primer reporte de *Neotoma micropus* (Rodentia) como reservorio de *Trypanosoma cruzi* en México. Bol. Chil. Parasitol., 47:54-57.
- GARCIA-PEÑA, J.B. 1988. Introducción a la Estadística en las Ciencias Biomédicas. Consejo Nacional de Fomento Educativo, Ed. Alambra Mexicana. México, D.F. 135 pp.
- GARDNER, A.L. 1973. The systematics of the genus *Didelphis* (Marsupialia:Didelphidae) in North and Middle America. Special Publ. Mus. Texas Tech Univ., 4:1-81.

- GILLETTE, L.N. 1980. Movements patterns of radio-tagged opossum in Wisconsin. *Amer. Midl. Nat.*, 104:1-12.
- GUZMAN-MARIN, E., M.A. BARRERA-PEREZ, M.E. RODRIGUEZ-FELIX y J.E. ZAVALA-VELAZQUEZ. 1992. Hábitos biológicos de *Triatoma dimidiata* en el estado de Yucatán, México. *Rev. Biomed.*, 3(3):125-131.
- HALL, E.R. y K.R. KELSON. 1952. Comments on the taxonomy and geographic distribution of some North American marsupials, insectivores and carnivores. *Univ. Kansas Publ., Mus. Nat. Hist.*, 5:319-342.
- HALL, E.R. 1981. *The Mammals of North America*. John Wiley and Sons, vol. 1: XV+600+90.
- HAMILTON, W.J., Jr. 1958. Life history and economic relations of the opossum (*Didelphis marsupialis virginiana*) in New York State. *Mem. Cornell Univ. Ag. Exp. Sta.* 354:1-48.
- HAYDON, D.T., S. CLEAVELAND, L.H. TAYLOR y M.K. LAURENSEN. 2002. Identifying reservoirs of infection: A conceptual and practical challenge. *Emerg. Infect. Dis.* 8(12):1468-1473.
- HERRERA, L. y S. URDANETA. 1992. *Didelphis marsupialis*: A primary reservoir of *Trypanosoma cruzi* in urban areas of Caracas, Venezuela. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 86(6):607-612.
- HERSHKOVITZ, P. 1951. Mammals from British Honduras, Mexico, Jamaica and Haiti. *Fieldiana Zool., Chicago Nat. Hist. Mus.*, 31:547-570.
- HOFFMANN, C.O. y J.L. GOTTSCHANG. 1977. Numbers, distribution, and movements of a racoon population in a suburban residential community. *Journal of Mammalogy*, 58(4):623-636.
- HOLMES, A.C.V. y G.C. SANDERSON. 1965. Population and movements of opossums in east-central Illinois. *J. Wild. Manage.* 29:287-295.
- HOLMES-MEISSNER, D. 1986. Histology and gross morphology of the sexually dimorphic sternal gland in the North American opossum, *Didelphis virginiana* Kerr. Pp. 579-585 *In* Chemical signals in vertebrates 4: ecology, evolution and comparative biology (D. Duvall, D. Müller-Schwarze, and R.M. Silverstein, eds.). Plenum Press, New York, 742 pp.
- HOLMES, D.J. 1992. Sternal odors as cues for social discrimination by female Virginia opossums, *Didelphis virginiana*. *J. Mamm.*, 73(2):286-291.

HOSSLER, R.J., J.B. MCANINCH, y J.D. HARDER. 1994. Maternal denning behavior and survival of juveniles in opossums in southeastern New York. *J. Mamm.*, 75(1):60-70.

HUBALEK, Z. 2003. Emerging infectious diseases: anthroponoses, zoonoses, and sapronoses. *Emerg. Infect. Dis.*, 9(3):403-404.

JANSEN, A.M., L. LEON, G.M. MACHADO, M.H. DA SILVA, S.M. SOUZA-LEAO, y M.P. DEANE. 1991. *Trypanosoma cruzi* in the opossum *Didelphis marsupialis*: Parasitological and serological follow-up of the acute infection. *Experimental Parasitology*, 73:249-259.

JANSEN, A.M., F. MADEIRA, J.C. CARREIRA, E. MEDINA-ACOSTA y M.P. 1997. *Trypanosoma cruzi* in the opossum *Didelphis marsupialis*: A study of the correlations and kinetics of the systemic and scent gland infections in naturally and experimentally infected animals. *Experimental Parasitology*, 86:37-44.

JONES, J.K., Jr., H.H. GENOWAYS y J.D. SMITH. 1974. Annotated checklist of mammals of the Yucatan Peninsula, Mexico. III. Marsupialia, Insectivora, Primates, Edentata, Lagomorpha. *Occas. Papers, Mus. Texas Tech Univ.*, 23:1-12.

KARSTEN, V., C. DAVIS y R. KUHN. 1992. *Trypanosoma cruzi* in wild raccoons and opossums in north Carolina. *J. Parasitol.*, 78(3):547-549.

KREBS, Ch.J. 1989. *Ecological methodology*. University of British Columbia. Harper Collins Publishers, 654 pgs.

LAY, D.W. 1942. Ecology of the opossum in Eastern Texas. *J. Mammal.*, 23(2):147-159.

LENT, H. y P. WYGODZINSKY. 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera:Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas disease. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, 163(3):125-520.

LEOPOLD, A.S. 1977. *Fauna Silvestre de México*. Instituto Mexicano de Recursos Renovables, Editorial Pax-México. México, D.F. 608 pp.

LORD, R.D. 1970. Vertebrate ecology in public health. *Public Health Reports*, 85(2):105-111.

MAZZOTTI, L. y E. DIAS. 1949. Resumen de los publicados sobre enfermedad de Chagas en México. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.*, 10(1-4):103-111.

MAZZOTTI, L. 1940. Dos casos de Enfermedad de Chagas en el estado de Oaxaca. *Gaceta Médica de México*, Tomo LXX:417-420.

McCRADY, E. 1938. The embryology of the opossum. *Amer. Nat. Mem.*, 16:1-234.

- McMANUS, J.J. 1970. Behavior of captive opossums, *Didelphis marsupialis virginiana*. Am. Mid. Nat., 84(1):144-169.
- McMANUS, J.J. 1974. *Didelphis virginiana*. Mammalian Species, 40:1-6.
- MECH, L.D. 1983. Handbook of Animal Radio-Tracking. University of Minnesota Press, Minneapolis, USA. 92 pp.
- MESLIN, F.-X. 1997. Global Aspects of Emerging and Potential Zoonoses: a WHO Perspective. 1st International Conference on Emerging Zoonoses. Jerusalem, Israel. Emerg. Infect. Dis., 3 (2): 223-228.
- MILES, M.A., A. A. de Souza y M. M. Pova. 1981. Mammal tracking and nest location in Brazilian forest with an improved spool-and-line device. Journal of Zoology. London. 195:331-347.
- NICHOLS, D.J. 1992. Capture-Recapture models. Bioscience, 42(2):94-102.
- NIXON, C.M., J.B. SULLIVAN, T. ESKER y R. KOERKENMEIER. Notes on the life history of opossums in west-central Illinois. Transactions of the Illinois State Academy of Science, 87(3-4):187-193.
- NOVAK, R.M. 1991. Walker's Mammals of the World. Vol. 1. The John Hopkins University Press, Londons. 642 pp.
- OPS, 2002. La Salud en las Américas. Vol. II. Publicación Científica No. 587. Washington, D.C.
- PETANA, W.B. 1969. American trypanosomiasis in British Honduras. VI. A natural infection with *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* in the opossum *Didelphis marsupialis* (Marsupialia:Didelphoidea), and experimental investigations of different wild-animal species as possible reservoirs for the parasite. Ann. Trop. Med. Parasitol., 63(1):47-56.
- PETERS, W. y H.M. GILLES, 1999. Tropical Medicine and Parasitology. 4th Ed. Mosby, NY, USA. 248 pp.
- PETRIDES, G.A. 1949. Sex and age determination in the opossum. J. Mamm., 30(4):364-378.
- PINZON, J., R. QUINTAL y J. ZAVALA. 1976. La enfermedad de Chagas en el estado de Yucatán. Informe de transmisores. Salud Pública de México, 18(6):999-1003.
- PUNG, O.J., C.W. BANKS, D.N. JONES y M.W. KRISSENGER. 1995. *Trypanosoma cruzi* in wild raccoons, opossums, and triatomine bugs in southeast Georgia, U.S.A. J. Parasitol., 81(2):324-326.

- QUINTAL, R.E. 1974. La enfermedad de Chagas en el estado de Yucatán. Tesis de Licenciatura, Facultad de Medicina, Universidad de Yucatán, México.
- QUINTAL, R.E. y G.G. POLANCO. 1977. Feeding preferences of *Triatoma dimidiata maculipennis* in Yucatan, Mexico. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 26(1):176-178.
- RABINOVICH, J., N. SCHWEIGMANN, V. YOHAI Y C. WISNIVESKY-COLLI. 2001. Probability of *Trypanosoma cruzi* transmission by *Triatoma infestans* (Hemiptera:Reduviidae) to the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia:Didelphidae). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 65(2):125-130.
- REBOLLAR-TELLEZ E.A., A. RAMIREZ-FRAIRE, y F.J. ANDRADE-NARVAEZ. 1996. A two years study on vectors of Cutaneous Leishmaniasis. Evidence for sylvatic transmission in the state of Campeche, Mexico. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 91(5):555-560.
- RENFREE, 1974. Ovariectomy during gestation in the American opossum, *Didelphis marsupialis virginiana*. *J. Reprod. Fert.*, 39:127-130.
- REYNOLDS, H.C. 1952. Studies on reproduction in the opossum (*Didelphis virginiana virginiana*). *Univ. Calif Publ. Zool.*, 52:223-284.
- ROBERTSON, A. 1929. Note on a Trypanosome morphologically similar to *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909, found in a opossum, *Didelphis marsupialis*, captured at Tela, Honduras, Central America. 18th. Ann. Rep. Med. Dept. United. Fruit Co., pgs:293-310.
- RUIZ-PIÑA, H.A. y F.J. ESCOBEDO-ORTEGON. 1990. Estudio de Vectores de la Enfermedad de Chagas en el Municipio de Mérida, Yucatán. Algunos aspectos ecológicos y biológicos. Tesis de Licenciatura. Escuela de Química, Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México.
- SALAMANCA, F. 1990. Citogenética Humana. Editorial Médica Panamericana. México, D.F. 400 pgs.
- SALAZAR-SCHETTINO, P.M., M.I. BUCIO-TORRES, I. DE HARO-ARTEAGA, J. TAY-ZAVALA y T. ALONSO-GUERRERO. 1987. Reservorios y transmisores de *Trypanosoma cruzi* en el estado de Oaxaca. *Salud Pública de México*, 29(1):26-32.
- SANDERSON, G.C. 1961. Estimating opossum population by marking young. *J. Wildl. Manage.* 25:20-27.
- SCHNEIDER, L.K. 1977. Marsupial chromosomes, cell cycles, and cytogenetics. In: *The Biology of Marsupials* (Hunsaker III, D. ed.). Academic Press, New York. 537 pp.

SEIDENSTICKER, J., M. O'CONNELL y T.J. JOHNSINGH. 1987. Virginia opossum. Pp. 247-261. *In: Wild furbearer management and conservation in North America* (Novak, M., J.A. Baker, M.E. Obbard y B. Malloch, eds.). Ontario Trappers Assoc., North Bay, 1150 pp.

SOLÍS-FRANCO, R.R., J.A. ROMO-ZAPATA y J.A. MARTÍNEZ-IBARRA. 1997. Wild reservoirs infected by *Trypanosoma cruzi* in the ecological park "El Zapotal", Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 92(2):163-164.

STEINDEL, M., A.F. SCHOLZ, H.K. TOMA, J.C. CARVALHO-PINTO y B.R. SCHLEMPER, Jr. 1987. Parasitism of blood and anal glands of naturally infected opossum (*Didelphis marsupialis*) from the Arvoredo Island Santa Catarina by *Trypanosoma cruzi*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Suppl. 82.

SUNQUIST, M.E., S.N. AUSTAD, y FIONA SUNQUIST. 1987. Movements patterns and home range in the common opossum (*Didelphis marsupialis*). *J. Mamm.*, 68(1):173-176.

TAY, J., D. ONTIVEROS, M. ORTEGA y J. TORRES. 1969. Estado actual de los conocimientos sobre infección en vertebrados por la Enfermedad de Chagas en México. *Bol. Of. Sanit. Panam.*, 67(4):310-314.

TAY, J., H. SCHENONE, J.T. SANCHEZ y L.ROBERT. 1992. Estado actual del conocimiento de la enfermedad de Chagas en la República Mexicana. *Bol. Chil. Parasitol.*, 47(3-4):43-53.

TELFORD, S.R., Jr., J.J. GONZALEZ y R.J. TONN. 1979. Reproduction and growth of *Didelphis marsupialis*, a primary reservoir host of Chagas' disease in the upper llanos of Venezuela. Maracay, *Bol. Dir. Malariol. Saneam. Ambient.*, 19(2):44-56.

TELFORD, S.R., Jr. y R. TONN. 1982. Dinámica de *Trypanosoma cruzi* en poblaciones de un reservorio primario, *Didelphis marsupialis*, en los llanos altos de Venezuela. *Bol. Of. Sanit. Panam.*, 93(4):341-364.

TRAVI, B.L., C. JARAMILLO, J. MONTOYA, I. SEGURA, A. ZEA, A. GONCALVES y I. VELEZ. 1994. *Didelphis marsupialis*, an important reservoir of *Trypanosoma* (Schizotrypanum) *cruzi* and *Leishmania* (Leishmania) *chagasi* in Colombia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 50(5):557-565.

TRAVI, B.L., Y. OSORIO, M.T. BECERRA, y G.H. ADLER. 1998. Dynamics of *Leishmania chagasi* infection in small mammals of the undisturbed and degraded tropical dry forests in northern Colombia. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 92:275-278.

TYNDALE-BISCOE, H. 1975. The opossum. A successful omnivore. *In: Life of marsupials* (Tyndale-Biscoe, H. Ed.). American Elsevier Publishing Company Inc., New York.

- WINEGARNER, M.S. 1982. Seasonal changes in the reproductive tract of the male opossum *Didelphis virginiana* Kerr in Florida. *The American Midland Naturalist*, 107:258-261.
- WISEMAN, G.L., y G.O. HENDRICKSON. 1950. Notes on the life history and ecology of the opossum in southeast Iowa. *J. Mammal.*, 31(3): 331-337.
- WISNIVESKY-COLLI, C., N.J. SCHWEIGMANN, A. ALBERTI, S.M. PIETROKOVSKY, O. CONTI, S. MONTOYA, A. RIARTE y C. RIVAS. 1992. Sylvatic American trypanosomiasis in Argentina. *Trypanosoma cruzi* infection in mammals from the Chaco forest in Santiago del Estero. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 86:38-41.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1959. Joint WHO/FAO expert committee on zoonoses. 2nd report. WHO technical report series no. 169, Geneva.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1979. Parasitic zoonoses. Technical Report Series No. 637. Geneva.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1991. Control of Chagas disease. Technical Report Series No. 811. Geneva. 95 pgs.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996. Chagas disease. A disease whose days are numbered. Division of Control of Tropical Disease. Geneva. 16 pp.
- YAEGER, R.G. 1971. Transmission of *Trypanosoma cruzi* infection to opossums via the oral route. *J. Parasitol.*, 57(6):1375-1376.
- ZAVALA-VELAZQUEZ J.E., R. QUINTAL-AVILES y M.H. RODRIGUEZ-LOPEZ. 1974. Enfermedad de Chagas en Yucatán. *Estudios de Transmisores. Reporte Preliminar. Higiene*, 24(3):202-206.
- ZAVALA-VELAZQUEZ J.E., M.H. RODRIGUEZ-LOPEZ y A. BAQUEIRO-DIAZ. 1975. Enfermedad de Chagas en el estado de Yucatán, México. Informe de cuatro casos clínicos. *Patología*, 13:355-363.
- ZAVALA-VELAZQUEZ J.E., D. ARJONA-CANTO y R. QUINTAL-AVILES. 1985. Enfermedad de Chagas. Informe de un caso clínico. *Rev. Invest. Clin.*, 25(4):367-371.
- ZAVALA-VELAZQUEZ, J., M. BARRERA-PEREZ, M. RODRIGUEZ-FELIX, E. GUZMAN-MARIN y H. RUIZ-PIÑA. 1996. Infection by *Trypanosoma cruzi* in mammals in Yucatan, Mexico: A serological and parasitological study. *Rev. Inst. Med. trop. Sao Paulo*, 38(4):289-292.
- ZAVALA-VELAZQUEZ, J. 2003. La Enfermedad de Chagas en el estado de Yucatán, México (1940-2002). *Revista Biomédica*, 14:35-43.

ZELEDON, R., G. SOLANO, G.S. SAENZ y J.C. SWARTZWELDER. 1970. Wild reservoirs of *Trypanosoma cruzi* with special mention of the opossum, *Didelphis marsupialis* in endemic area of Costa Rica. *J. Parasitol.*, 56:38.

ZELEDON R. 1974. Epidemiology, modes of transmission and reservoirs hosts of Chagas' disease. *In: Trypanosomiasis and Leishmaniasis with special reference to Chagas' disease. Ciba Foundation Symposium 20 (New Series)*, pp. 51-77.

ZELEDON R. y J.E. RABINOVICH. 1981. Chagas' disease: An ecological appraisal with special emphasis on its insect vectors. *Ann. Rev. Entomol.*, 26:101-133.

ANEXO I. Datos de las hembras reproductivas de *D. virginiana* con crías en el marsupio capturadas en Dzidzilché, Yucatán durante el período abril 196-mayo 1998.

Clave	Fecha de Captura	Período	Camada			Fecha Apareamiento
			Proporción sexos (macho:hembra)	Tamaño	Edad (días)	
Z1B4	250496	Abr-May 96	4:6	10	33	10 marzo 96
Z2C2	“	“	4:5	9	15	28 marzo 96
Z3D2	“	“	3:7	10	15	28 marzo 96
Z4A1	“	“	3:6	9	30	13 marzo 96
Z5B1	“	“	5:6	11	31	14 marzo 96
Z10C2	290496	“	5:2	7	35	12 marzo 96
Z11C4	“	“	1:8	9	38	9 marzo 96
Z13B1	080596	“	5:5	10	31	25 marzo 96
Z14D3	“	“	6:4	10	35	21 marzo 96
Promedio			12:17	9.4±1.1	29.2±8.4	
Z15C3	170696	Jun-Jul 96	9:0	9	5	30 mayo 96
Z16C3	180696	“	-	4	1	4 junio 96
Promedio			9:0	6.5±3.5	3±2.8	
Z52D4	230497	Abr-May 97	4:5	9	30	11 marzo 97
RZ50C1	240497	“	1:7	8	35	7 marzo 97
RZ42B1	060597	“	3:6	9	44	10 marzo 97
RZ46B3	070597	“	4:6	10	44	11 marzo 97
Z54C3	080597	“	5:6	11	48	8 marzo 97
Promedio			17:30	9.4±1.1	40.2±7.4	
RZ70B2	120398	Mar 98	4:6	10	10	17 febrero 98
RZ66C4	160398	“	6:1	7	5	26 febrero 98
Z74C3	270398	“	3:6	9	8	6 marzo 98
Promedio			13:13	8.6±1.5	7.6±2.5	
Z75B2	060498	Abr-May 98	3:6	9	30	22 febrero 98
Z76B3	“	“	5:5	10	10	14 marzo 98
RZ65C3	080498	“	4:7	11	25	1 marzo 98
Z79C1	100498	“	4:5	9	43	13 febrero 98
Z80B3	140498	“	3:7	10	44	15 febrero 98
Z82C1	160498	“	6:1	7	32	2 marzo 98
Z84A2	180498	“	4:6	10	10	26 marzo 98
RZ42B2	“	“	5:6	11	40	24 febrero 98
RZ55A2	120498	“	3:4	7	26	4 marzo 98
Promedio			28:35	9.3±1.5	28.8±12.7	
Promedio Total			79:95	9.1±1.5	26.8±14.1	

ANEXO II. Condiciones del marsupio de las hembras de *D. virginiana* que no presentaron embriones capturadas en Dzidzilché, Yucatán durante el período abril 196-mayo 1998.

CLAVE	PERÍODO	EDAD (meses)	Descripción del marsupio	Estado Reproductivo
Z23B2	AS-96	11	Tetas prominentes y apariencia lobulosa	Madura
Z24C1		11	Coloración amarillento-anaranjado	Madura
RZ23B3	N-96	14.5	Coloración amarillenta. Tetas prominentes no lactantes	Madura
Z26C1		10	Coloración amarillenta, tetas prominentes con secreción amarillenta.	Madura
Z28B1		8.5	Peludo y coloración blanquizca. Tetas casi imperceptibles	Virgen
Z29A1		8	Peludo y coloración blanquizca. Poco desarrollado	Virgen
Z30B2		11	Coloración amarillenta-oscura. Tetas prominentes	Madura
Z32C1		9	Poco desarrollado, tetas imperceptibles	Virgen
Z35C1		5.5	Peludo y poco desarrollado	Virgen
Z38A2		5	Peludo y poco desarrollado	Virgen
Z39B2		5	Peludo y poco desarrollado	Virgen
Z41A1		5.5	Poco desarrollado	Virgen
Z42B3	F-97	8.5	Poco desarrollado, pliegues evidentes y tetas pequeñas	Madura. ¿Cerca del estro?
Z45A3		6	Peludo con tetas imperceptibles	Virgen
Z46B3		10	Coloración amarillenta. Tetas pequeñas con secreción amarillenta	Preñada
Z47A3		8.5	Coloración amarillenta y tetas pequeñas con secreción amarillenta	Preñada
Z49A1		8.5	Coloración anaranjada. Tetas pequeñas	Madura
Z50B4		8.5	Coloración anaranjada. Tetas perceptibles con secreción blanquizca	Madura-Preñada
RZ1D1		22	Coloración amarillenta. Tetas grandes con la punta negra	Madura
RZ2D1		20	Coloración amarillenta. Tetas grandes	Madura
Z55A2	SO-97	8	Coloración amarillenta. Tetas pequeñas	Madura
Z57B3		8	Coloración amarillenta. Tetas pequeñas	Madura
Z58B1		9.5	Coloración anaranjada. Tetas grandes	Madura
Z59B3		10	Coloración anaranjada. Tetas grandes	Madura
Z60C3		10	Coloración amarillenta. Tetas grandes	Madura
Z65D2	FM-98	10	Coloración rojiza-amarillenta. Tetas grandes	Madura
Z66B4		8	Coloración anaranjada. Tetas pequeñas con secreción amarillenta	Madura-Preñada
Z70B2		9	Coloración anaranjada. Tetas grandes con secreción	Madura-Preñada
Z71A1		8.5	Coloración anaranjada. Tetas grandes	Madura

ANEXO III. Relación de tlacuaches que presentaron la mancha amarillenta-verduzca entre el cuello y pecho capturados en Dzidzilché, Yucatán durante el período abril 196-mayo 1998.

Clave/Sexo	Mes/Año de captura	Longitud de Testículos. (mm)	Edad (meses)
Z7D4	AM-96	20	11
RZ6B27	AM-96	23	+12
Z20B4	JJ-96	25	12
Z22C3	JJ-96	8	4
Z26B4	SO-96	20	7
Z31B3	N-96	20	8
Z34C1	N-96	13	5
Z37B2	N-96	15	5
Z40B1	N-96	23	11
Z43B4	F-97	21	11
Z44B1	F-97	22	11
Z68B3	FM-98	22	9
Z69C3	FM-98	23.6	12
Z72B2	FM-98	20.1	12
Z73B2	FM-98	23.1	10
Z74A2	FM-98	23.7	12
Z81D2	AM-98	22.1	9.5

ANEXO IV Desplazamiento de individuos recapturados de *D. virginiana* por edad y condición reproductiva

CLAVE	EDAD	EDO. REPRODUCTIVO 1ª CAPTURA	EDO. REPRODUCTIVO RECAPTURA	ESTACIONES DE COLECTA	DESPLAZAMIENTO (METROS)	TIEMPO TRANSCURRIDO (DÍAS)
Z1	ADULTO	LACTANTE	NO LACTANTE	B4-D1	858	344
Z2	ADULTO	LACTANTE	LACTANTE	C2-D2	250	16
			NO LACTANTE	D2-D1	250	285
Z6	ADULTO	REPRODUCTIVO	REPRODUCTIVO	B4-B2	500	12
Z20	ADULTO	REPRODUCTIVO	REPRODUCTIVO	B4-B3	250	140
Z23	ADULTO	NO LACTANTE	NO LACTANTE	B2-B3	250	71
Z26	SUBADULTO	NO REPRODUCTIVO	REPRODUCTIVO	B4-B2	500	147
Z27	SUBADULTO	NO REPRODUCTIVO	REPRODUCTIVO	B2-D1	535	185
Z34	SUBADULTO	NO REPRODUCTIVO	NO REPRODUCTIVO	C1-C1	0	3
Z41	SUBADULTO	NO LACTANTE	NO LACTANTE	A1-B2	341	73
Z42	SUBADULTO	NO LACTANTE	NO LACTANTE	B3-B4	250	2
			LACTANTE	B4-B1	750	92
			LACTANTE	B1-B2	250	356
Z43	ADULTO	REPRODUCTIVO/	REPRODUCTIVO	B4-B4	0	4
Z45	SUBADULTO	NO LACTANTE	NO LACTANTE	A3-A2	250	13
Z46	ADULTO	NO LACTANTE	NO LACTANTE	B3-B3	0	12
			NO LACTANTE	B3-B3	0	4
			LACTANTE	B3-B3	0	75
Z50	ADULTO	NO LACTANTE	LACTANTE	B4-C1	752	64
Z51	SUBADULTO	REPRODUCTIVO	REPRODUCTIVO	B4-B1	722	64
Z55	SUBADULTO	NO LACTANTE	LACTANTE	A2-A2	0	229

continuación ANEXO IV

CLAVE	EDAD	EDO. REPRODUCTIVO 1ª CAPTURA	EDO. REPRODUCTIVO RECAPTURA	ESTACIONES DE COLECTA	DESPLAZAMIENTO (METROS)	TIEMPO TRANSCURRIDO (DÍAS)
Z60	ADULTO	NO LACTANTE	NO LACTANTE	C3-A2	527.7	219
Z63	SUBADULTO	REPRODUCTIVO	REPRODUCTIVO	B3-B2	250	201
Z64	SUBADULTO	REPRODUCTIVO	REPRODUCTIVO	B2-B4	500	72
Z65	ADULTO	NO LACTANTE	LACTANTE	D2-C3	333	65
			LACTANTE	C3-D1	533.3	20
Z66	SUBADULTO	NO LACTANTE	NO LACTANTE	B4-B4	0	14
			LACTANTE	B4-C4	250	24
			LACTANTE	C4-B4	250	4
			LACTANTE	B4-B4	0	7
			LACTANTE	B4-B4	0	28
Z70	ADULTO	NO LACTANTE	LACTANTE	B2-B2	0	24
			LACTANTE	B2-B2	0	26
Z74	ADULTO	LACTANTE	LACTANTE	C3-C3	0	11
Z75	ADULTO	LACTANTE	LACTANTE	B2-B3	250	10
			LACTANTE	B3-B3	0	11
			LACTANTE	B3-B3	0	8
Z85	CRÍA	INMADURA	INMADURA	D3-B4	522.2	18