



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

ECOLOGÍA

Determinación de la presencia de reservorios, vectores  
y parásitos de tres zoonosis emergentes  
(Tripanosomiasis americana, Leishmaniosis y  
Borreliosis) en la región de Los Tuxtlas Veracruz,  
México.

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**RODRIGO ISAÍAS LEÓN VILLEGAS**

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. VÍCTOR MANUEL GUILLERMO SÁNCHEZ-  
CORDERO DÁVILA, INSTITUTO DE BIOLOGÍA

COMITÉ TUTORAL: Dr. ENRIQUE MARTÍNEZ MEYER, INSTITUTO DE BIOLOGÍA  
Dra. INGEBORG DOROTHEA BECKER FAUSER, FACULTAD DE MEDICINA

MÉXICO, D.F. junio, 2015



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.

## **Agradecimientos**

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Al CONACYT por la beca de maestría otorgada.

Al proyecto CONACYT CB-2009 132811 “Estudio de las relaciones ecológicas entre reservorios, vectores y parásitos de tres zoonosis emergentes que coinciden geográficamente en el centro y noreste de México”.

Al proyecto PAPIIT- DGAPA IN202711 “Relaciones ecológicas y geográficas entre reservorios, vectores y parásitos de tres zoonosis emergentes” por el financiamiento para el trabajo de campo.

A mi director de tesis el Dr. Víctor Sánchez-Cordero Dávila, por sus enseñanzas, tiempo, consejos, amistad y sobre todo, por darme la oportunidad de ser su alumno.

A los miembros de mi comité tutorial: Dr. Enrique Martínez Meyer y Dra. Ingeborg D. Becker Fauser por sus valiosos consejos y enseñanzas para enriquecer este trabajo.

## **Agradecimientos personales**

A todo el personal de la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas” por las atenciones otorgadas, para la realización de este trabajo, muy especialmente a la Biol. Rosamond Coates Lutes por todos sus consejos.

A mis compañeros del Laboratorio de Sistemas de Información Geográfica: Lázaro, Jesús Iglesias, Angélica Hernández y Maru Mar. A mis compañeros de campo y laboratorio Ruth Gómez y Diana Montiel por todo el apoyo.

Muy especialmente agradezco a los doctores Ángel Rodríguez Moreno y Gabriel Gutiérrez Granados por todas sus enseñanzas, sus consejos, ayuda y sobre todo por su amistad y memorables momentos y experiencias vividas en cada salida de campo, siempre llevare todas esas vivencias en mi mente y corazón.

A la M. en C. Cristina Cañeda Guzmán por sus enseñanzas, consejos, interminable paciencia y sobre todo, por su amistad.

Al laboratorio de Inmunoparasitología de la Facultad de Medicina UNAM.

Al laboratorio de enfermedades infecciosas de la Universidad del Norte de Texas.

Al laboratorio de Acarología IBUNAM, especialmente a la M. en C. Griselda Montiel Parra.

Al Laboratorio de Entomología Médica UANL. En especial al Doctor Eduardo Rebolgar Téllez.

A todos mis compañeros que alguna vez me acompañaron en campo: Diana Montiel, Adriana Cruz, Yokomi Nisei Lozano, Flor Martínez, Mayela Montes, Obdulia Gutiérrez y Lorena Alamilla.

## **Dedicatoria**

A mis padres por su maravilloso ejemplo de lealtad y honestidad. Por todos los valores que me inculcaron con su ejemplo, y por todo su amor.

A mis sobrinos Damián Andrés, Mildred Mayte, Diego de Jesús y Miriam Andrea

A mi abuela Catalina por todo su cariño

RESUMEN .....	9
ABSTRACT .....	10
1. INTRODUCCIÓN .....	12
2. ANTECEDENTES .....	14
2.1 Tripanosomiasis americana (enfermedad de Chagas).....	14
2.2 Ciclos de transmisión natural de <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	16
2.3 Enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis americana) en México .....	18
2.4 Factores ecológicos relacionados con la incidencia de la enfermedad de Chagas .....	18
2.5 Vectores de <i>Trypanosoma cruzi</i> en México .....	20
2.6 Reservorios potenciales de <i>Trypanosoma cruzi</i> en México.....	23
2.7 Borreliosis (enfermedad de Lyme) .....	25
2.8 Ecología de la enfermedad de Lyme .....	26
2.9 Ciclo de vida de las garrapatas vectores de <i>Borrelia burgdorferi</i> .....	27
2.10 Vectores potenciales de <i>Borrelia burgdorferi</i> en México .....	28
2.11 Condiciones ecológicas que inciden en la presencia de la enfermedad de Lyme .....	30
2.12 Estudios de la enfermedad de Lyme en México .....	30
2.13 Leishmaniosis .....	31
2.14 Distribución de vectores y casos humanos de Leishmaniosis.....	31
2.15 Reservorios de <i>Leishmania spp.</i> en México .....	34
2.16 Condiciones ecológicas que inciden en la presencia de casos de Leishmaniosis .....	35
3. JUSTIFICACIÓN .....	36
4. HIPÓTESIS .....	37
5. OBJETIVO.....	37
5.1 Objetivos específicos.....	37
6. METODOLOGÍA.....	38
6.1 Sitio de estudio .....	38
6.2 Vegetación.....	38
6.3 Fauna .....	39
6.4 Clima .....	39
6.5 Diseño experimental.....	40
6.6 Colectas y procesamiento de reservorios y vectores.....	40
6.7 Captura de roedores.....	40
6.8 Murciélagos .....	41
6.9 Procesamiento de las colectas de roedores y murciélagos .....	42
6.10 Obtención de tejidos.....	42
6.11 Cuadrante de experimentación método de “spool and line” (carrete y cordel).....	43
6.12 Captura de vectores (triatominos, lutzomyias y garrapatas) .....	45
6.12.1 Triatomas .....	45
6.12.2 Lutzomyias (flebotomos).....	46
6.12.3 Ixodes y Amblyommas (garrapatas).....	47
6.13 Detección de parásitos por PCR .....	47
6.13.1 <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	47
6.13.2 <i>Leishmania spp.</i> .....	48
6.13.3 <i>Borrelia burgdorferi</i> .....	49
7. RESULTADOS .....	52
7.1 Mamíferos .....	52
7.1.1 Abundancias de mamíferos por periodo de muestreo .....	53
7.2 Artrópodos.....	54
7.2.1. Triatomas.....	54
7.2.2 Abundancias de Triatominos .....	54
7.3 Flebotomos .....	56
7.3.1 Abundancias de flebotomos por periodos de colecta.....	58
7.4 Garrapatas.....	59
7.4.1 Abundancias de mamíferos parasitados con garrapatas.....	61
7.5 Análisis de la infección por PCR de <i>Trypanosoma cruzi</i> , <i>Leishmania spp.</i> y <i>Borrelia burgdorferi</i> .....	62

7.5.1 Roedores.....	62
7.5.2 Murciélagos.....	62
7.5.3 Triatomas.....	63
7.5.4 Flebótomos.....	64
8. DISCUSION.....	65
8.1 Reservorios.....	65
8.2 Vectores.....	68
9. CONCLUSIONES.....	75
10. ANEXOS.....	76
Montaje de flebótomos.....	76
11. LITERATURA CITADA.....	81

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Triatominos vectores de <i>T. cruzi</i> en México (Cruz-Reyes and Pickering-Lopez 2006).....	23
Tabla 2. Reservorios domésticos infectados con <i>T. cruzi</i> en México.....	24
Tabla 3. Especies de mamíferos silvestres reservorios de <i>T. cruzi</i> en México.....	24
Tabla 4. Especies de <i>Ixodes</i> en México (Guzmán-Cornejo and Robbins 2010) ...	28
Tabla 5. Especies de <i>Amblyomma</i> en México (Guzmán-Cornejo et al. 2011).....	29
Tabla 6. Mamíferos hospederos de <i>Amblyomma</i> spp. en México (Guzmán-Cornejo et al. 2011).....	29
Tabla 7. Especies de Lutzomyias registradas en México (Ibáñez-Bernal 2005) ...	33
Tabla 8. Caracterización de las colectas de flebótomos.....	57

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Número de individuos de las diferentes especies de mamíferos capturados en todo el estudio.....	53
Gráfica 2. Promedio de abundancias de las diferentes especies de mamíferos colectadas.....	53
Gráfica 3. Abundancias de roedores y murciélagos por periodo de colecta.....	54
Gráfica 4. Abundancia de individuos capturados de las dos especies de triatominos.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Gráfica 5. Número de individuos de las dos especies de triatominos colectadas en los nueve diferentes periodos de muestreo.....	55
Gráfica 6. Promedio de abundancias de las dos especies de triatominos colectados.....	56
Gráfica 7. Número de individuos por especie de flebótomos colectados.....	57
Gráfica 8. Abundancias totales de flebótomos colectados por periodos de colecta.....	58
Gráfica 9. Abundancias de larvas y adultos de Ixodidae colectados en los periodos de muestreo.....	60
Gráfica 10 Promedio de abundancias de garrapatas tanto larvas como adultos...	60
Gráfica 11. Número y especies de roedores ectoparasitados con larvas y adultos de garrapatas.....	61



## ÍNDICE DE FOTOS

Foto 1. Trampa Sherman utilizada para la colecta de roedores (foto R. León) .....	41
Foto 2. Red de niebla utilizada para la colecta de murciélagos (foto de C. Cañeda Guzmán).....	42
Foto 3. Trabajo de campo y obtención de tejidos.....	43
Foto 4. “Spooling” colocado en el dorso de un roedor colectado (foto A. Rodríguez-Moreno).....	44
Foto 5. Roedor ya con el “spooling” colocado yendo hacia su madriguera (foto A. Rodríguez-Moreno). .....	45
Foto 6. Roedor entrando a su madriguera (foto A. Rodríguez-Moreno) .....	45
Foto 7. Vivienda típica del sitio de estudio en donde fueron colectados triatomos .....	46
Foto 8. Colocación de trampa CDC para la colecta de flebótomos. (Foto R. León) .....	47
Foto 9. Análisis por PCR de los tejidos colectado de mamíferos para detectar <i>Borrelia burgdorferi</i> en la North Texas University (Health Science Center Tick-Borne Disease Research Lab). .....	52
Foto 10. Triatomas positivas para <i>T. cruzi</i> (VER03/ VER04).....	63
Foto 11. Imagen representativa del PCR realizado a hembras de lutzomyias para detectar <i>Leishmania spp.</i> .....	65
Foto 12. A) Separación de flebótomos; B) separación de flebótomos.....	79
Foto 13. A) Flebótomos separados; B) <i>Lutzomyia spp.</i> .....	79
Foto 14. Etiqueta con datos taxonómicos, localidad de colecta, georreferencia, colector y montaje del ejemplar (Cortesía de C. Cañeda).....	80

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fases de desarrollo (estadios) de un triatomo desde huevo hasta adulto. ....	15
Figura 2. Factores ecológicos relacionados con la presencia de la enfermedad de Chagas.....	20
Figura 3. Mapa de distribución de los vectores confirmados y potenciales de <i>T. cruzi</i> en México (In: Cruz-Reyes y Pickering-Lopez 2006).....	22
Figura 4. Mapa de distribución de las principales especies de triatomos vectores de <i>T. cruzi</i> en México (In: Cruz-Reyez y Pickering 2006).....	22
Figura 5. Factores ecológicos relacionados con la presencia de la enfermedad de Lyme .....	27
Figura 6. Distribución de vectores y casos de Leishmaniosis en México (González 2010).....	33
Figura 7. Condiciones ecológicas que inciden en la presencia de Leishmaniosis. 36	
Figura 8. Sitio de estudio: Estación de Biología Tropical “LosTuxtlas” (EBTLT) ...	38

## RESUMEN

El ciclo ecológico de las zoonosis está compuesto de varios actores, entre estos se encuentran los reservorios, que son aquellos que no solamente adquieren la infección, sino que, además, son una fuente de infección para los vectores. Se planteó la hipótesis que los roedores y murciélagos (reservorios potenciales) que habitan en simpatria con los vectores: triatomas, lutzomyias, ixodes y amblyommas están infectados con uno, dos o los tres parásitos (*Trypanosoma cruzi*, *Leishmania spp.* y *Borrelia burgdorferi*) causantes respectivamente de Tripanosomiasis americana, Leishmaniosis y Borreliosis en la región de Los Tuxtlas. Se realizaron colectas bimensuales de octubre de 2011 a mayo de 2013 para documentar estas interacciones. Se usaron diferentes métodos de muestreo para la captura de roedores y quirópteros y la posterior colecta de tejidos biológicos, así como la colecta de triatomos, lutzomyias y garrapatas. Se capturaron 204 mamíferos de 17 especies, 150 triatomos de dos especies, 1003 lutzomyias de 15 especies y 189 individuos de garrapatas, de las cuales han sido identificadas tres especies hasta el momento. Se detectó *Borrelia spp.* en el 7% de todos los murciélagos (n=78). La prevalencia por especie fue para *C. sowerlli* del 42% y en *A. jamaicensis* del 11%; ningún individuo de *A. lituratus* y *S. liliium* fue positivo. Sin embargo, todos los individuos fueron negativos para *B. burgdorferi*. En el caso de *T. cruzi*, todos los murciélagos resultaron negativos a la infección. El 0.4% de los roedores analizados (n=26) fue positivo a *Borrelia spp.* pero no se detectó *B. burgdorferi* en ningún individuo. El individuo positivo a *Borrelia spp.*

pertenece a la especie *H. desmarestianus*. Con respecto a *T. cruzi*, todos resultaron negativos.

El 20% de los triatominos analizados pertenecientes a *T. dimidiata* fueron positivos para *T. cruzi* (n=10). El 16% de los flebótomos analizados (n=110) fueron positivos a *Leishmania spp.* Las prevalencia por especie fueron: *Lu. aclydifera* 19% (n=69), *Lu. deleoni* 50% (n=2), *Lu. shannoni* 33% (n=3), *Lu. carpenteri* 25% (n=4), *Lu. cruciata* 25% (n=4) y *Brumptomyia hamatalmesai* 50% (n=2). Se corrobora la presencia de triatomas infectadas con *T. cruzi*. Además, es la primera vez que se documenta la presencia de *Leishmania* y *Borrelia* en la región de Los Tuxtlas. El que no se haya detectado *T. cruzi* en mamíferos silvestres podría indicarnos la domiciliación de la infección y por consiguiente, del parásito ya que las triatomas positivas fueron colectadas en el peridomicilio. Este estudio es pionero en analizar el ciclo ecológico total de estas tres zoonosis.

## **ABSTRACT**

The ecological cycle of zoonoses is composed of several actors, these include reservoirs, which are not only those who acquire the infection, but also are a source of infection for vectors. Triatomas, lutzomyias, Ixodes and amblyommas are infected with one, two or all three parasites (*Trypanosoma cruzi*, *Leishmania spp.* and *Borrelia burgdorferi*) Cause: the hypothesis that rodents and bats (potential reservoirs) living in sympatry with the vectors was raised respectively of American Trypanosomiasis, Leishmaniasis and Borreliosis in the region of Los Tuxtlas. Bimonthly collections October 2011 to May 2013 were conducted to document these interactions. Different sampling methods for catching rodents and bats, and

the subsequent collection of biological tissues, as well as the collection of triatomines lutzomyias and ticks were used. 204 mammals of 17 species, two species of 150 triatomines, 1003 lutzomyias of 15 species and 189 individuals tick, of which three species have been identified so far were captured. *Borrelia spp.* detected. 7% of all bats (n=78). The prevalence for *C. sowerli* species was 42% and 11% *A. jamaicensis*; any individual *A. lituratus* and *S. liliium* was positive. However, all individuals were negative for *B. burgdorferi*. In the case of *T. cruzi*, all bats tested negative for the infection. 0.4% of the rodents tested (n = 26) were positive for *Borrelia spp.* but *B. burgdorferi* was not detected in any individual. The positive individual *Borrelia spp.* belongs to the species *H. desmarestianus*. Regarding *T. cruzi*, all were negative. 20% of the triatomines belonging to *T. dimidiata* analyzed were positive for *T. cruzi* (n = 10). 16% of sandflies analyzed (n = 110) were positive for *Leishmania spp.* The prevalence of each species were *Lu. aclydifera* 20% (n = 71), *Lu. deleoni* 50% (n = 2), *Lu. shannoni* 33% (n = 3), *Lu. carpenteri* 25% (n = 4), *Lu. cruciata* 25% (n = 4). The presence of triatomines infected with *T. cruzi* is corroborated. In addition, it is the first time the presence of *Leishmania* and *Borrelia* documented in the region of Los Tuxtlas. The failure is detected *T. cruzi* in wild mammals could indicate the clearance of infection and therefore the parasite since positive triatomines were collected in the homes. This study is a pioneer in analyzing the total ecological cycle of three zoonoses.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las zoonosis son enfermedades infecciosas que naturalmente son transmitidas entre vertebrados y el ser humano (Palmer *et al.* 1998). Dentro de éstas se encuentran las zoonosis emergentes, que son aquellas que han sido descubiertas recientemente, o que ya se les conocía, pero presentan un incremento en la incidencia y expansión geográfica, se presentan en nuevos hospederos y el rango de distribución de sus vectores, ha aumentado (Daszak *et al.* 2001). Algunos ejemplos de este tipo de enfermedades son el Virus del Oeste del Nilo (Ezenwa 2006), la enfermedad de Lyme (Ostfeld y Keesing 2000), y el Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS) (Alam y Hammerschlag 2004) que son causadas por patógenos generalistas es decir, aquellos que infectan fácilmente a más de una especie de hospedero (Woolhouse *et al.* 2001). El ciclo ecológico de una zoonosis está compuesto por cuatro actores principales estos se clasifican en: 1) el parásito, 2) los reservorios, que son aquellos que no solo adquieren la infección, sino que, además, son una fuente de infección para 3) los vectores, que son los artrópodos (insectos y/o garrapatas) que transmiten los patógenos a los 4) hospederos accidentales que son los individuos que potencialmente pueden desarrollar la enfermedad (Disney 1968). Se considera reservorios a los animales que mantienen al patógeno (Ostfeld y Keesing 2000). Muchas enfermedades infecciosas del ser humano son causadas por agentes patógenos que habitan predominantemente en mamíferos silvestres. Dentro de estos, los grupos más importantes son los roedores y los murciélagos ya que se reconocen como reservorios de patógenos, los cuales mediante el “cruzamiento de especies” llegan a infectar a otros animales silvestres y al ser humano (Mills y

Childs 1998; Kunz y Fenton 2003; de Luis *et al.* 2013). Existen dos tipos de reservorios; reservorio primario, que es el mamífero responsable de mantener la infección en un foco enzoótico, y el reservorio secundario, que es aquel que a pesar de infectarse, no puede mantener el ciclo enzoótico (Saliba *et al.* 1999; Shaw 1998). Los animales domésticos, como perros, caballos, cerdos y gatos son, en principio, hospederos accidentales, sin embargo, esto no implica que sean menos importantes en el ciclo ecológico de las zoonosis (Silva *et al.* 2005).

Estas interacciones entre reservorios y vectores son fundamentales para la prevalencia de algunas zoonosis, ya que la dinámica de las enfermedades está correlacionada con las fluctuaciones poblacionales de los vectores y reservorios (McHugh *et al.* 1996; McHugh *et al.* 2003).

La Leishmaniosis, la enfermedad de Lyme y la enfermedad de Chagas son algunas de las zoonosis más importantes, por la morbilidad y mortalidad que originan, así como por el número de personas que habitan en zonas donde se tiene documentada la presencia de los mamíferos que son reservorios y los insectos (triatominos y lutzomyias) y las garrapatas (*Ixodes* y *Amblyomma*) vectores de estas enfermedades (Ramsey *et al.* 2003; Gordillo *et al.* 2003; Rebollar *et al.* 1996). El estudio de la enfermedad de Chagas y Leishmaniosis en el país, se ha descuidado (Hotez 2014). En el caso de la enfermedad de Lyme no hay estudios de su ecología. Hasta el momento se desconoce el total de especies que están involucradas en el desarrollo de estas tres zoonosis. Por lo tanto, es muy importante conocer específicamente a los organismos que participan activamente en el ciclo ecológico de las mismas. Por lo tanto, el propósito de este trabajo fue documentar que especies de roedores y murciélagos cumplen el papel

de reservorios, así como que especies de chinches, garrapatas y lutzomyias están infectadas con *Trypanosoma cruzi*, *Borrelia burgdorferi* y *Leishmania spp.* respectivamente.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 Tripanosomiasis americana (enfermedad de Chagas)**

La Tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas fue descrita por primera vez en Brasil en 1909 (Chagas 1909). Es causada por el protozoario parásito *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae). Este parásito es transmitido por las heces de ciertas especies de insectos hematófagos de la familia Reduviidae, subfamilia Triatominae (Peterson *et al.* 2002; Chagas 1909). Es una zoonosis vectorial. Dado su evolución esta enfermedad cursa hacia la cronicidad en seres humanos, pasando por tres etapas (aguda, latente y crónica), pudiendo causar la muerte en diferentes etapas de la infección. Entre el 10 al 15 % de los enfermos presentan discapacidad como consecuencia de los daños cardíacos o digestivos (Apt *et al.* 2008). En América los triatominos se encuentran en zonas tropicales y subtropicales aproximadamente entre los 40° paralelos en cada hemisferio (Rodríguez y Gorla 2004). Los casos que se han detectado seropositivos tanto en animales reservorios como en seres humanos para el parásito de *T. cruzi*, han sido entre las latitudes 42° norte a la 46°, desde el sur de Estados Unidos hasta el sur de Argentina (Pinto-Días *et al.* 1992; Coura 1983; 1985; Pereira 1985).

Todos los triatominos desde sus primeros estados ninfales necesitan alimentarse de sangre para desarrollarse y las hembras además, para el desarrollo de sus

huevos, por lo tanto, pueden transmitir el parásito durante todas las fases de su desarrollo, después de su eclosión (**figura 1**) (Lent y Wygodzinsky 1979). Las rutas secundarias más comunes de transmisión son las transfusiones de sangre, infección congénita, trasplante de tejido, e incluso, se han reportado casos de transmisión oral del parásito, debido a la ingesta de jugos de fruta, contaminada con las heces del vector (Alarcón *et al.* 2010; Beltrao *et al.* 2009), aunque la principal causa de transmisión es la vectorial (Martins- Melo *et al.* 2012). Entre el 30% y 40% de los individuos con esta enfermedad desarrollan patologías crónicas inflamatorias, disfunciones del tracto gastrointestinal y cardiopatías (Duthie *et al.* 2005).

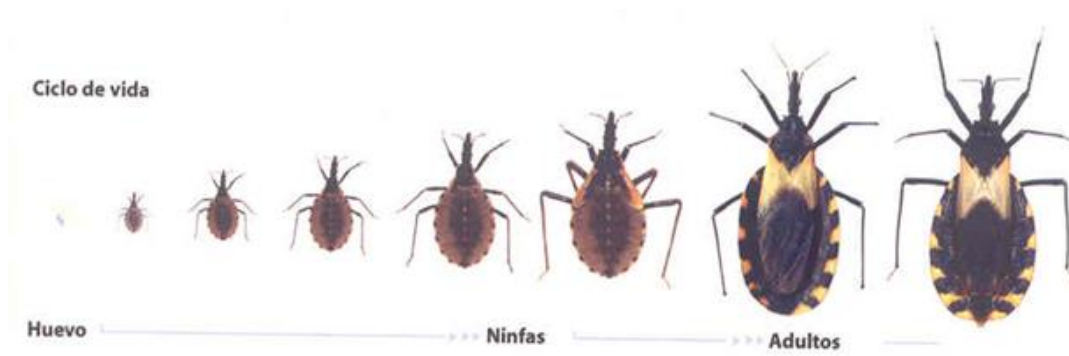


Figura 1. Fases de desarrollo (estadios) de un triatomino desde huevo hasta adulto. (Tomado de Bayer- Instituto Nacional de Salud Pública)

La enfermedad de Chagas es una causa importante de morbilidad y mortalidad en todo el continente Americano, ya que esta afecta alrededor de 16 a 18 millones de personas, y el número de víctimas mortales se calcula entre 25,500 y 63,000 por año en todo el continente Americano, y por lo menos 69,000 contraen la enfermedad, además, se estima que 100 millones de personas de 21 países del Nuevo Mundo viven en zonas endémicas y por lo tanto, están en riesgo de



infección, ya que en estas zonas, del 25 al 100% de las viviendas pueden estar infestadas con triatominos vectores, de todos los estadios ninfales (Levy *et al.* 2006; Ramsey *et al.* 2003; Peterson *et al.* 2002). Entre las enfermedades cardíacas, la enfermedad de Chagas es la más prevalente en las zonas endémicas, y es la enfermedad parasitaria que más muertes ocasiona en todo el continente Americano (Duthie *et al.* 2005; WHO 2002). Por lo anterior, el Banco Mundial desde 1993, la considera como la enfermedad parasitaria más grave de América (Miles *et al.* 2003; Schofield *et al.* 1996).

## **2.2 Ciclos de transmisión natural de *Trypanosoma cruzi***

Existen dos diferentes maneras de transmisión vectorial del parásito *T. cruzi*; 1) el de origen enzoótico, el cual se presenta en zonas silvestres en donde participan los mamíferos reservorios silvestres y las chinches nativas de esas áreas y 2) el que ocurre en los asentamientos humanos, cuyas viviendas se encuentra habitando alguna de las especies de triatominos vectores y sitios peridomésticos donde el ciclo se mantiene (Pinto-Días 1992).

Los triatominos adquieren los tripomastigotes circulantes del parásito a través de la sangre que ingieren de un reservorio mamífero previamente infectado. Posteriormente, el desarrollo del parásito se completa en el intestino del vector, cuando los tripomastigotes se transforman mediante una forma intermedia llamada esferomastigote a epimastigotes, la cual es la etapa principal de replicación en el vector. Los epimastigotes migran al intestino posterior del triatominos y se diferencian en tripomastigotes metacíclicos infecciosos, que se excretan junto con las heces del vector. La transmisión se lleva a cabo cuando los triatominos

infectados pican al hombre o a los animales y después de una ingesta abundante de sangre, defecan fácilmente sobre la piel. Estos tripomastigotes metacíclicos penetran al tejido cuando estas deyecciones se frotan sobre la piel o las mucosas, donde entran a través de la mordedura o la lesión del vertebrado (Burleigh y Andrews 1995). Los parásitos circulantes pueden comenzar nuevos ciclos de replicación e infectar a otros vectores de la misma y/o diferente especie que se alimenten del hospedero, la oportunidad de adquisición del parásito en el vector se potencializa, ya que *T. cruzi* puede permanecer durante toda la vida del reservorio (Bern *et al.* 2011).

El éxito de transmisión del vector dependerá de la capacidad de adaptabilidad, plasticidad y rango de movimiento que pueda llevar a cabo cada especie de triatmino en el medio intra y peridomiciliario, así como en los hábitats selváticos (Dujardin y Schofield 2004; Schofield *et al.* 1999). Uno de los más importantes aspectos con los que se complementa el ciclo silvestre de *T. cruzi*, son los mamíferos cuya sangre sirve de alimento a los triatominos y de reservorio al parásito, algunos de los principales reservorios son marsupiales y roedores, ya que los triatominos colonizan sus nidos, que les brindan refugio y alimento (WHO 2002; Lent y Wygodzinsky 1979). En la actualidad se han registrado 180 especies de mamíferos como reservorios de *T. cruzi*, aunque potencialmente todos los mamíferos pueden ser reservorios del parásito (Herrera 2010; Bern *et al.* 2011). En particular, armadillos, primates y marsupiales son importantes reservorios de *T. cruzi*, debido a que éstos tres grupos de mamíferos son sus reservorios ancestrales (Chagas 1912 y 1924; Yeo *et al.* 2005; Gaunt y Miles 2000).

### **2.3 Enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis americana) en México**

Se han registrado para México 35 (25%) de las 140 especies de 11 géneros de triatomíneos conocidos en todo el mundo, 28 de ellas endémicas de México y Centroamérica. Por lo tanto, existen en el país un elevado número de vectores que potencialmente pueden transmitir *T. cruzi* (Ibarra-Cerdeña *et al.* 2009; Carcavallo *et al.* 1999; Salazar-Schettino *et al.* 1998; Lent y Wygodzinsky 1979; Schofield y Galvão 2009).

En 1928 en el estado de Veracruz se registra por primera vez a *Triatoma dimidiata* uno de los principales vectores para el país de *T. cruzi*, (Hoffman 1928). Sin embargo, no fue hasta el periodo comprendido entre 1936 y 1940 en Oaxaca, cuando se registró por primera vez al vector, reservorios y al ser humano infectados (Mazzotti 1936; 1940). Los vectores de la enfermedad de Chagas se distribuyen por todo el país (Cruz-Reyes y Pickering-López 2006). Se estima que 71 millones de personas se encuentran en riesgo de contraer la infección con *T. cruzi* por transmisión vectorial de al menos diez especies de triatomíneos (Mota *et al.* 2007). En tanto que, aproximadamente 1.8 millones (~2% de la población de México) podrían estar infectados. Además los muertos ocasionados por esta enfermedad podrían estar entre 25 500–63 000 por año, incluyendo la mortalidad infantil (0-5 años) de ~ 830 muertes por año (Ramsey *et al.* 2003).

### **2.4 Factores ecológicos relacionados con la incidencia de la enfermedad de Chagas**

Mamíferos silvestres como marsupiales, roedores, mustélidos, cánidos y murciélagos son reservorios de *T. cruzi*. Sin embargo, en México a pesar de ser uno de los países con mayor número de especies de mamíferos (525) a nivel

mundial, se desconocen las especies que participan activamente en el ciclo ecológico de la enfermedad de Chagas (Ceballos y Oliva 2005; Peterson *et al.* 2002; Ruíz-Piña y Cruz-Reyes 2002; Zavala-Velázquez *et al.* 1996).

En el caso de los reservorios domésticos de *T. cruzi* los principales son los gatos y perros, ya que se ha correlacionado la presencia de personas enfermas de Chagas que tienen estas especies como mascotas. (Segura y Escobar-Mesa 2005), debido a que los triatomíneos se alimentan de la sangre de éstos y otros animales domésticos siendo reservorios confirmados de *T. cruzi* (Mazzotti 1940; Beltrán 1949; Salazar-Schettino *et al.* 1987, Guzmán-Bracho 1985; Martínez *et al.* 2014). Además, factores abióticos tales como la velocidad del viento, el tipo de vegetación, la precipitación pluvial, la humedad relativa, y la temperatura inciden en la abundancia de los vectores y por ende, aumenta la posibilidad de contagio vectorial de *T. cruzi* al ser humano (Dumonteil y Gourbière 2004).

Por otra parte, la presencia de basura, sembradíos, gallineros y leña en las cercanías de las viviendas, favorece la presencia de los triatomíneos, ya que son atraídos por las luces de las viviendas, además por la materia orgánica que les brinda refugio y zonas de reproducción. Por lo tanto, en sitios peridomésticos encuentran todas las condiciones necesarias para desarrollar todo su ciclo biológico. (Segura y Escobar-Mesa 2005; Enger *et al.* 2004; Coura *et al.* 2002).

Otros aspectos que favorecen la abundancia y dispersión de los vectores son los altos índices de marginación y pobreza, debido al hacinamiento entre las viviendas que se presenta y a que son más antiguas y están construidas con materiales de menor calidad (Ramsey *et al.* 2005). Además, se ha asociado la infestación de chinches a la presencia de terrenos baldíos aledaños, pastizales y bosques así

como a la presencia de animales domésticos como cerdos, caballos, vacas, ovejas y ratones silvestres (Ramsey 2005) (**figura 2**).

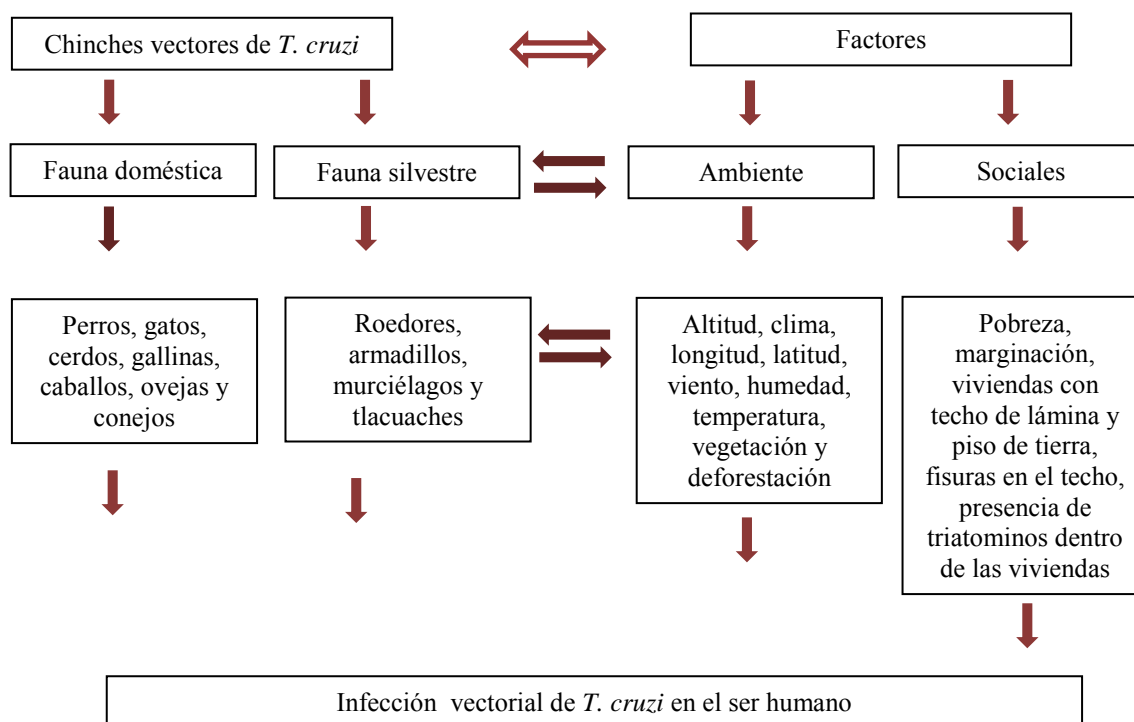


Figura 2. Factores ecológicos relacionados con la presencia de la enfermedad de Chagas.

## 2.5 Vectores de *Trypanosoma cruzi* en México

La familia Reduviidae se compone de más de 6600 especies, divididas en 21 subfamilias (Weirauch 2008). En particular, la subfamilia Triatominae agrupa alrededor de 140 especies, potencialmente todos vectores de *T. cruzi* (Schofield *et al.* 1999; Schofield y Galvão 2009). Sin embargo, solo 60 de estas especies, se han confirmado como transmisoras (Schofield 1994). La clave está en la capacidad de cada triatomo para acercarse, entrar a las viviendas y alimentarse de la sangre humana (Dujardin y Schofield 2004). En México se reconocen aproximadamente 35 especies (**tabla 2**) que se distribuyen prácticamente por todo el territorio nacional (**figura 3**) (Cruz-Reyes y Pickering 2006). De la subfamilia

Triatominae (Reduviidae, Hemiptera), que se compone de siete géneros *Triatoma* es el género más importante en la transmisión del parásito al humano (Schofield *et al.* 2006; Ibarra-Cerdeña *et al.* 2009). La gran mayoría de las especies mexicanas de triatominos se agrupan en el complejo Phyllosoma y son endémicas de México: *T. bassolsae*, *T. pallidipennis*, *T. mazzottii*, *T. longipennis*, *T. picturata*, *T. phyllosoma* y *T. mexicana*. *T. brailovskyi* y *T. bolivari* aunque no pertenecen al complejo Phyllosoma, son también endémicas de México. (Ibarra-Cerdeña *et al.* 2009; Lent y Wygodzinsky 1979; Espinoza *et al.* 2013). Se estima que el 67% de la transmisión vectorial en México ocurre por alguna de las 6 primeras especies (**figura 4**). Otras especies importantes son *T. dimidiata* (responsable de alrededor del 21% de la transmisión vectorial) y *T. gerstaeckeri* (7% de la transmisión vectorial) (Ramsey *et al.* 2003). *T. dimidiata* es el principal vector de *T. cruzi* para el sur y sureste de México (Guzmán-Marín *et al.* 1991; Martínez-Ibarra *et al.* 1998), para el noreste de México, *T. gerstaeckeri* se considera el más importante (Martínez-Ibarra *et al.* 1992).

Especies de vectores

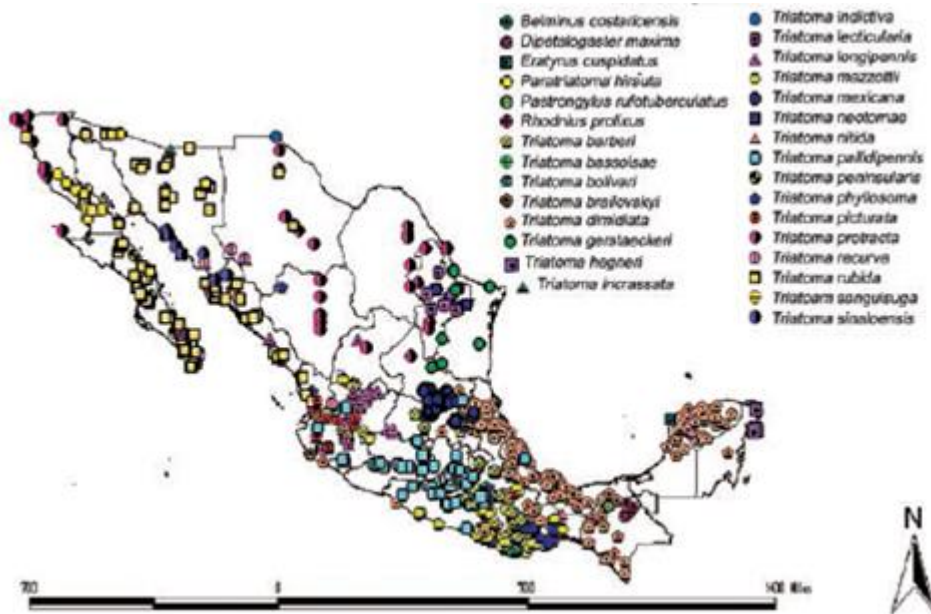


Figura 3. Mapa de distribución de los vectores confirmados y potenciales de *T. cruzi* en México (In: Cruz-Reyes y Pickering-Lopez 2006)

Principales especies de vectores de *T. cruzi* en México

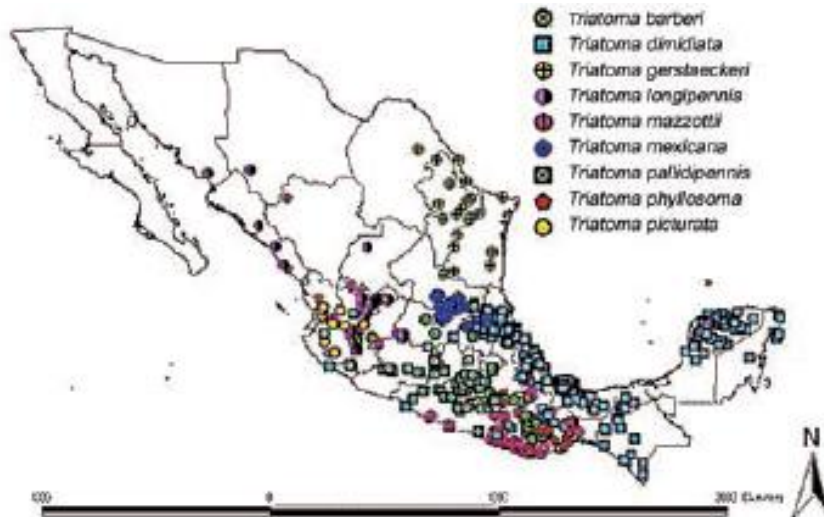


Figura 4. Mapa de distribución de las principales especies de triatominos vectores de *T. cruzi* en México (In: Cruz-Reyez y Pickering 2006)

Tabla 1. Triatominos vectores de *T. cruzi* en México (Cruz-Reyes and Pickering-Lopez 2006)

<i>T. barberi</i> *	<i>T. intermedia</i>	<i>T. usingeri</i>
<i>T. rubida</i>	<i>T. phyllosoma</i> *	<i>T. bassolsae</i>
<i>T. sanguisuga</i>	<i>T. hegneri</i>	<i>T. gomeznunezi</i>
<i>T. pallidipennis</i> *	<i>T. lecticularia</i>	<i>T. brailovski</i>
<i>T. dimidiata</i> *	<i>T. nitida</i>	<i>T. bassolsae</i>
<i>T. longipennis</i> *	<i>T. peninsularis</i>	<i>T. bolivari</i>
<i>T. mexicana</i>	<i>T. recurva</i>	<i>T. indictiva</i>
<i>T. mazzotti</i> *	<i>T. sinaloensis</i>	<i>T. neotomae</i>
<i>T. gerstaeckeri</i> *	<i>T. protracta</i>	<i>T. incrassata</i>
<i>T. picturata</i> *	<i>Eratyrus cuspidatus</i>	<i>Rhodnius prolixus</i>
<i>Paratriatoma hirsuta</i>	<i>Dipetalogaster maxima</i>	<i>Belminus costaricensis</i>
<i>Panstrongylus rufotuberculatus</i>		

\* Principales vectores de *T. cruzi* en México

## 2.6 Reservorios potenciales de *Trypanosoma cruzi* en México

En México, se desconoce la diversidad de especies que conforman los reservorios naturales de *T. cruzi* (Stephens *et al.* 2009). Por otro lado, se han desarrollado técnicas de laboratorio con el fin de obtener oligonucleótidos específicos, para identificar *T. cruzi* en mamíferos (Mota *et al.* 2007). Además, se han realizado estudios regionales de las diferentes especies de mamíferos relacionadas ecológicamente con las especies de triatominos vectores, debido a que habitan en simpatria con los roedores (Peterson *et al.* 2002). Algunos estudios muestran que existen 18 especies de mamíferos silvestres y domésticos que son reservorios de *T. cruzi*, en los estados de Colima, Jalisco, Michoacán,



Oaxaca, Morelos, Nuevo León y Distrito Federal (Salazar-Schettino 1997; Villegas-García y Santillán-Alarcón 2001) (**tabla 3 y 4**).

Una de las principales especies reservorios del parásito es el perro (*Canis familiaris*), por ejemplo, Estrada y colaboradores encontraron el 21% de los perros infectados con *T. cruzi* en Guerrero, México (Estrada-Franco et al. 2006). Esto ha llevado a correlacionar la prevalencia entre la seropositividad entre perros y humanos (Estrada-Franco et al. 2006). Por lo tanto, los perros son considerados un elemento importante en la dinámica de reservorio-parásito-vector- infectado (WHO 2002; Gurtler et al. 1998).

Tabla 2. Reservorios domésticos infectados con *T. cruzi* en México

<b>Especie</b>	<b>Referencia</b>
<i>Canis familiaris</i> (Oaxaca y Morelos)	Mazzotti 1940; Salazar-Schettino et al. 1997
<i>Rattus norvegicus</i> (Ciudad de México)	Beltrán 1949
<i>Mus musculus</i> (Jalisco)	Tay et al. 1979
<i>Felis domesticus</i>	Cruz-Reyes and Pickering-Lopez 2006
<i>Sus scrofa</i> (Morelos)	Salazar-Schettino et al. 1997
<i>Bos taurus</i> (Morelos)	Guzmán-Bracho 1985
<i>Rattus rattus</i> (Yucatán)	Zavala-Velázquez et al. 1996

Tabla 3. Especies de mamíferos silvestres reservorios de *T. cruzi* en México

<b>Especie</b>	<b>Referencia</b>
<i>Liomys irroratus</i> (Morelos)	Villegas- García and Santillán- Alarcón 2001
<i>Neotoma mexicana</i> (Morelos)	Villegas- García and Santillán- Alarcón 2001
<i>Pteronotus parnelli</i> (Morelos)	Villegas- García and Santillán- Alarcón 2001
<i>Choeronycteris mexicana</i> (Morelos)	Villegas- García and Santillán- Alarcón 2001
<i>Glossophaga soricina</i> (Morelos)	Villegas- García and Santillán- Alarcón 2001
<i>Baiomys musculus</i> (Morelos)	Villegas- García and Santillán- Alarcón 2001

<i>Dasypus novemcinctus</i> (Oaxaca)	Mazzotti 1940
<i>Sigmodon hispidus</i> (Oaxaca)	Domínguez y Espinoza 1988
<i>Carollia perspicillata</i> (Oaxaca)	Domínguez y Espinoza 1988
<i>Didelphis marsupialis</i> (Nuevo León y Michoacán)	Aguirre-Pequeño 1947; Perrín <i>et al.</i> 1947
<i>Ototylomys phyllotis</i> (Oaxaca)	Domínguez y Espinoza 1988
<i>Neotoma micropus</i> (Nuevo León)	Galaviz-Silva <i>et al.</i> 1992
<i>Sciurus vulgaris</i> (Jalisco)	Tay <i>et al.</i> 1979
<i>Tyloma nudicaudus</i> (Oaxaca)	Domínguez y Espinoza 1988
<i>Phylander opossum</i> (Veracruz)	Cruz-Reyes (1990) citado por Velasco-Castrejón 1991

## 2.7 Borreliosis (enfermedad de Lyme)

La Borreliosis o enfermedad de Lyme junto con toda su sintomatología fue descrita por vez primera a mitad del siglo XX en Europa posteriormente fue registrado en los Estados Unidos, en el condado de Old Lyme, Connecticut en 1976 (Mast y Burrows 1976a, 1976b). Es una enfermedad infecciosa, transmitida por garrapatas infectadas con la bacteria *Borrelia burgdorferi* (*Ixodes* y *Amblyomma*) (Walter *et al.* 1994). *Borrelia spp.* son bacterias gram negativas, microaerofílicas de la familia de Treponemataceae que también incluye a los géneros *Leptospira* y *Treponema*. Se pueden cultivar en un medio de cultivo BSK (Barbour-Stoenner- Kelly) a temperatura óptima de 33 a 35 °c. Se ha podido aislar de sangre, piel y líquido cefalorraquídeo, aunque crece lentamente, por lo que son difíciles de obtener (Ruddy *et al.* 1997). Esta patología es multisistémica, inicialmente ocasiona lesiones dérmicas patognómicas llamadas eritemas migrantes (Rahn 1991). Sus manifestaciones más severas pueden ser reumáticas, neurológicas y cardíacas (Steere 2001).

Las garrapatas transmisoras de *B. burgdorferi* pertenecen al género *Ixodes* (*I. scapularis* e *I. pacificus* en Norte América; *I. ricinus* e *I. persulcatus* en África,

Asia y Europa); (Van Buskirk y Ostfeld 1995). En particular, *I. scapularis* es vector de varios tipos de zoonosis, entre ellas la fiebre de las Rocallosas, la enfermedad de Lyme y otras riquetsiosis (Cooley y Kohls 1944; Oteo-Revuelta y Estrada-Peña 1991; Estrada-Peña *et al.* 2004). La enfermedad de Lyme es la más frecuente de transmisión vectorial entre los humanos, en las zonas templadas (Kurtenbach *et al.* 2006; Zeller *et al.* 2007). En Estados Unidos son reportados entre 10,000 y 17,000 casos cada año por los departamentos de salud estatales del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC 1998). Además de los miles de casos que ocurren cada año en Europa y Asia (Barbour y Fish 1993).

## **2.8 Ecología de la enfermedad de Lyme**

El reservorio principal en Estados Unidos de *B. burgdorferi* son los roedores, el comportamiento y posiblemente el estado inmunológico de estos, puede determinar el importante rol que desempeñan en ser reservorios de los patógenos, transmitidos por las garrapatas (Hughes y Randolph 2001; Bown *et al.* 2003). La importancia de las interacciones entre reservorios y vectores radica en que la abundancia de las garrapatas (vectores) puede estar en parte determinada por la abundancia de los mamíferos hospederos, que son principalmente *Peromyscus leucopus* y *Odocoileus virginianus* (Jones *et al.* 1998; Allan *et al.* 2003; Ostfeld *et al.* 2006; Levi *et al.* 2012; Wood y Lafferty 2013) (**figura 5**).

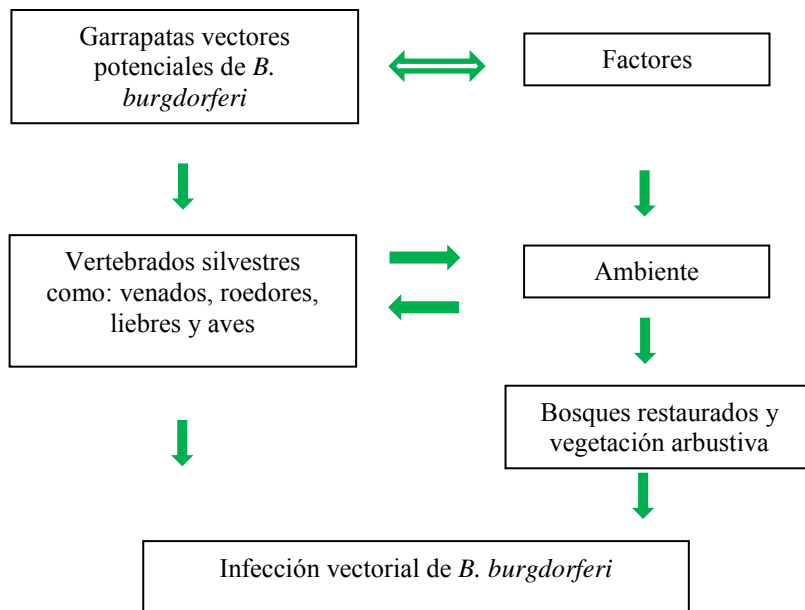


Figura 5. Factores ecológicos relacionados con la presencia de la enfermedad de Lyme.

### 2.9 Ciclo de vida de las garrapatas vectoras de *Borrelia burgdorferi*

El ciclo de vida de las garrapatas es de dos años. Las hembras adultas depositan sus huevos al inicio de la primavera. En el verano los huevos se convierten en larvas. Las larvas se alimentan de sangre de roedores y otros mamíferos pequeños, venados y pájaros; al final del verano o principios del otoño se transforman en ninfas e hibernan hasta la siguiente primavera. Las ninfas se alimentan también de sangre de mamíferos y ocasionalmente de humanos en primavera y verano. En otoño se convierten en adultos (Keirans *et al.* 1996). Las garrapatas adultas se alimentan de mamíferos grandes, como venados de cola blanca y en ocasiones de humanos. (Mather 1993). Las hembras adultas abandonan a los mamíferos grandes sobre los que habitan y ponen los huevos en los árboles para completar el ciclo de dos años. Los venados de cola blanca son portadores de las formas adultas de las garrapatas y a partir de ellos se pueden

infestar otros mamíferos, como ratones y liebres (Keirans *et al.* 1996; Singh-Behl *et al.* 2003; Martínez *et al.* 1999; Hamilton 1998). Las garrapatas pueden infectarse con *B. burgdorferi* si se alimentan de la sangre de una persona infectada con la misma bacteria, una vez que la garrapata adquiere la infección, esta puede mantenerse en ella durante todo su vida (Mather 1993).

## **2.10 Vectores potenciales de *Borrelia burgdorferi* en México**

México cuenta con 26 (10.7%) (**tabla 5**), de las 243 especies de *Ixodes* (Ixodidae) conocidas en todo el mundo, las cuales son ectoparásitos de aves y mamíferos, la mayoría son transmisoras potenciales de parásitos causantes de enfermedades al ser humano, a la fauna silvestre y doméstica (Guzmán-Cornejo y Robbins 2010; Guglielmone *et al.* 2006; Sonenshine 1991). El género *Ixodes* ha sido colectado en 20 de los 32 estados del país, siendo el estado de Veracruz el que concentra la mayor riqueza de especies en el país con seis (Guzmán-Cornejo y Robbins 2010). Además, se han identificado en Baja California, la Península de Yucatán, el Golfo de México y la zona noreste de la República (Hoffmann 1962). Otro género de garrapatas que son vectores potencial de *B. burgdorferi* es *Amblyomma* (Ixodidae), se conocen en México 26 especies cuya presencia se ha documentado en 30 estados del país, siendo los mamíferos el principal grupo parasitado de vertebrados (**tabla 7**), además de aves y reptiles, donde también se han colectado, este tipo de ectoparásitos (Guzmán-Cornejo y Robbins 2010).

Tabla 4. Especies de *Ixodes* en México (Guzmán-Cornejo and Robbins 2010).

<i>I. affinis</i>	<i>I. dentatus</i>	<i>I. scapularis</i> *
<i>I. angustus</i>	<i>I. eadsi</i>	<i>I. sinaloa</i>
<i>I. bequaerti</i>	<i>I. guatemalensis</i>	<i>I. spinipalpis</i>
<i>I. boliviensis</i>	<i>I. loricatus</i>	<i>I. tamaulipas</i>
<i>I. brunneus</i>	<i>I. luciae</i>	<i>I. tancitaris</i>
<i>I. conepati</i>	<i>I. mexicanus</i>	<i>I. texanus</i>
<i>I. cookei</i>	<i>I. murreleti</i>	<i>I. tovari</i>
<i>I. cuernavacensis</i>	<i>I. pacificus</i>	<i>I. woodi</i>
<i>I. dampfi</i>	<i>I. rubidus</i>	

\* Vector confirmado de *B. burgdorferi*

Tabla 5. Especies de *Amblyomma* en México (Guzmán-Cornejo et al. 2011)

<i>A. elaphense</i>	<i>A. inornatum</i>
<i>A. inornatum</i>	<i>A. longirostre</i>
<i>A. longirostre</i>	<i>A. imitator</i>
<i>A. imitator</i>	<i>A. pacae</i>
<i>A. pecarium</i>	<i>A. cajennense</i>
<i>A. cajennense</i>	<i>A. americanum</i>
<i>A. americanum</i>	<i>A. calcaratum</i>
<i>A. calcaratum</i>	<i>A. scutatum</i>
<i>A. auricularium</i>	<i>A. nodosum</i>
<i>A. parvum</i>	<i>A. ovale</i>
<i>A. maculatum</i>	<i>A. oblongoguttatum</i>
<i>A. triste</i>	<i>A. coelebs</i>
<i>A. tigrinum</i>	

Tabla 6. Mamíferos hospederos de *Amblyomma* spp. en México (Guzmán-Cornejo et al. 2011).

<i>Bos taurus</i>	<i>Nasua narica</i>
<i>Odocoileus virginianus</i>	<i>Artibeus jamaicensis</i>
<i>Mazama americana</i>	<i>Didelphis spp.</i>
<i>Equus asinus</i>	<i>Lagomorpha</i>
<i>Equus caballus</i>	<i>Tapirus bairdii</i>
<i>Sus scrofa</i>	<i>Tamandua mexicana</i>
<i>Pecari tajacu</i>	<i>Tamandua tetradactyla</i>
<i>Tayassu pecari</i>	<i>Homo sapiens</i>
<i>Dasyopus novemcinctus</i>	<i>Sphiggurus mexicanus</i>
<i>Canis familiaris</i>	<i>Sigmodon hispidus</i>
<i>Urocyon cinereoargenteus</i>	<i>Sciurus aureogaster</i>
<i>Panthera onca</i>	

## **2.11 Condiciones ecológicas que inciden en la presencia de la enfermedad de Lyme**

Se considera que la alteración de los ecosistemas está relacionada con la presencia de casos de la enfermedad de Lyme en Norteamérica. La hipótesis del efecto de dilución considera que en ecosistemas sin alteraciones y bien conservados existe una baja posibilidad de contraer la enfermedad de Lyme (Ostfeld y Keesing 2000). Sin embargo, se ha documentado que la presencia de ecosistemas conservados y con una biodiversidad alta, no ofrece una garantía de no adquirirla, ya que, la enfermedad de Lyme, se presentaba en las poblaciones de nativos americanos desde antes de la colonización europea (Wood y Lafferty 2013). Recientes investigaciones han demostrado que se presentan más casos de ésta zoonosis en paisajes restaurados. La evidencia sugiere que incrementa su incidencia en este tipo de bosques después de que tuvieron uso agrícola por un largo periodo de tiempo (Wood y Lafferty 2013).

## **2.12 Estudios de la enfermedad de Lyme en México**

En México se han encontrado pacientes con síntomas sospechosos de la enfermedad de Lyme (Salinas-Meléndez *et al.* 1999; Vargas 1993; Salinas-Meléndez *et al.* 1995; Gordillo-Pérez *et al.* 1999; Gordillo-Pérez *et al.* 2003). Algunos casos atribuibles a esta patología fueron descritos a principios de la década de 1990 en los estados de Sinaloa y Nuevo León, sin que se haya logrado la confirmación etiológica (Maradiaga *et al.* 1991; Arroyave y Taméz 1994). Otros

casos registrados en humanos han sido en los estados de Coahuila, Tamaulipas, Veracruz, Jalisco y Distrito Federal (Gordillo-Pérez *et al.* 2003), En 1999, en un estudio de seroprevalencia epidemiológica nacional, se encontró positividad por ELISA en 1.1% de las muestras y se confirmó ésta en 0.3% de las mismas mediante inmunotransferencia. Los sujetos seropositivos fueron ubicados en la zona noreste y centro de la República Mexicana además la prevalencia de casos seropositivos sugieren que la infección por *B. burgdorferi* ocurre en el Distrito Federal (Gordillo-Pérez *et al.* 2003).

### **2.13 Leishmaniosis**

La Leishmaniosis es una enfermedad causada por al menos 13 especies de protozoarios del género *Leishmania*. Se transmite por la picadura de mosquitos de los géneros *Lutzomyia* y *Phlebotomus* (Psychodidae: Phlebotominae) (Salomón 2009). *Leishmania*, fue descrito por el médico escocés William Boog Leishman en 1903, a partir de biopsias viscerales y cutáneas en enfermos de la India (Leishman 1903). Las manifestaciones clínicas de la enfermedad, van desde úlceras cutáneas que cicatrizan espontáneamente hasta formas fatales, en las cuales se presenta inflamación severa del hígado y del bazo. La enfermedad por su naturaleza zoonótica, tiene múltiples animales silvestres y domésticos como reservorios incriminados (Ashford 2000).

### **2.14 Distribución de vectores y casos humanos de Leishmaniosis**

La Leishmaniosis se distribuye en 21 países del continente Americano con excepción de Uruguay y Chile, se registra en México, Centro y Sudamérica, el sur



de Europa, Asia y África. Aproximadamente 350 millones de personas viven en sitios que son vulnerables a la enfermedad. Según los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de EU y la Organización Mundial de la Salud (OMS) estiman que aproximadamente 1.5 millones de nuevos casos de Leishmaniosis cutánea y 500,000 casos de Leishmaniosis visceral ocurren cada año (Dedet 1993; OMS 2010; CDC 2004). Alrededor del mundo se han registrado aproximadamente 800 especies de flebótomos, de las cuales 93 han sido documentadas como vectores confirmados o probables de *Leishmania*, las cuales se distribuyen desde los 50-48° LN (Canadá-EEUU, Francia, China) a los 40° LS (Argentina, Sudáfrica, Australia) (Galati 1995). Sin embargo, frecuentemente se confirman más especies como vectores, y en otras regiones no se conoce a las especies transmisoras (OMS 2010). En América se han registrado aproximadamente 380 especies pertenecientes al género *Lutzomyia*, siendo el género que presenta mayor riqueza de especies, dentro de la familia Psychodidae, que a su vez está compuesta por seis subfamilias (Bruchomyiinae, Phlebotominae, Trichomyiinae, Sycoracinae, Horaiellinae y Psychodinae) (Duckhouse 1973; Wagner e Ibáñez-Bernal 2009). En particular, México registra 48 especies (6% del total) (**Tabla 8**) que se distribuyen en gran parte del territorio nacional (Ibáñez-Bernal *et al.* 2006) (**figura 6**). Las especies de individuos adultos de flebótomos miden de 2 a 3 mm de largo y presentan alas lanceoladas y las coloca cuando se posicionan mientras se alimentan en forma de de “V”. Los machos se alimentan de azúcares de vegetales, las hembra son hematófagas en una etapa de su ciclo de vida, ya que necesitan ingerir sangre para madurar sus huevos, siendo en

general activas del crepúsculo al amanecer. Las larvas se crían en tierra húmeda con abundante material orgánico en descomposición (Salomón 2009).

Tabla 7. Especies de Lutzomyias registradas en México (Ibáñez-Bernal 2005)

<i>L. panamensis</i> *	<i>L. carpenteri</i>	<i>L. delpozi</i>	<i>L. trinidadensis</i>
<i>L. deleoni</i>	<i>L. texana</i> *	<i>L. olmeca</i> *	<i>L. vexator</i>
<i>L. anthophora</i> *	<i>L. aclydifera</i>	<i>L. ylephiletor</i> *	<i>L. stewarti</i>
<i>L. dodgei</i>	<i>L. cratifer</i>	<i>L. chiapanensis</i>	<i>L. oppidana</i> *
<i>L. atulapai</i>	<i>L. undulata</i>	<i>L. ctenidophora</i>	<i>L. vindicator</i>
<i>L. permira</i>	<i>L. shannoni</i> *	<i>L. wirthi</i>	<i>L. ovallesi</i> *
<i>L. caminoi</i>	<i>L. dasymera</i>	<i>L. durani</i>	<i>L. beltrani</i>
<i>L. longipalpis</i> *	<i>L. inusitata</i>	<i>L. cayennensis</i>	<i>L. steatopyga</i>
<i>L. evansi</i> *	<i>L. serrana</i>	<i>L. gomezi</i>	<i>L. cruciata</i> *
<i>L. diabolica</i> *	<i>L. atulapai</i>		

\* Vector sospechoso de *Leishmania* spp.

\* Vector confirmado de *Leishmania mexicana*

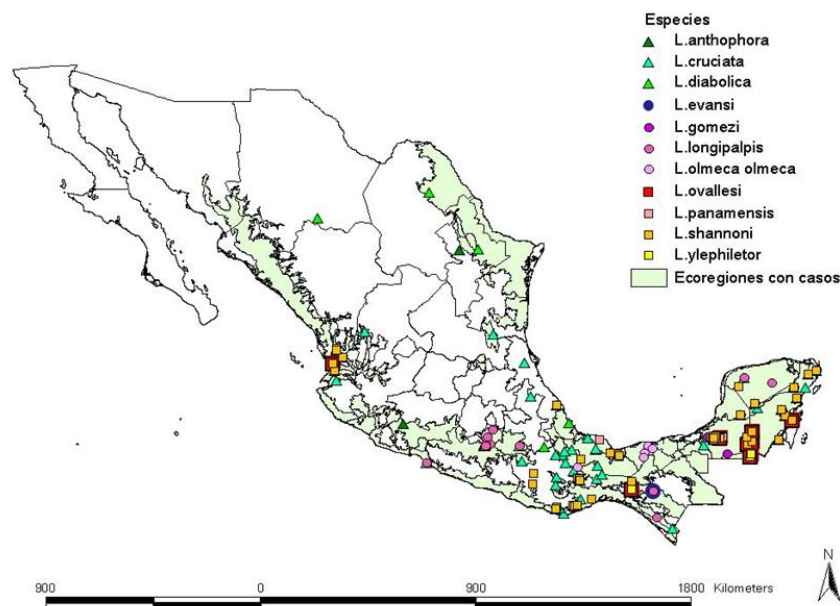


Figura 6. Distribución de vectores y casos de Leishmaniosis en México (González 2010)

En América tropical la transmisión de Leishmaniosis se piensa que se ha limitado a los hábitats selváticos húmedos, debido al contacto que tienen los seres humanos, cuando se encuentran realizando actividades de tipo forestal, en las

selvas donde se presenta el vector infectado (Lainson *et al.* 1988; Peterson y Shaw 2003). *Leishmania mexicana* es el principal agente causal de Leishmaniosis cutánea en México y Norteamérica. *Leishmania mexicana* ha sido aislada de diversos mamíferos y flebótomos en México (Biagi *et al.* 1965; Rebollar *et al.* 1996; Van Wynsberghe *et al.* 2000). La Leishmaniosis ha sido registrada en 22 estados de la República Mexicana y puede presentarse en sus diferentes tipos dependiendo de la zona del país. La forma visceral de la enfermedad, causada por *Leishmania chagasi* (*syn. L. infantum*) ocurre en la cuenca del río Balsas y en el estado de Chiapas. Se sospecha que el vector principal es *Lutzomyia longipalpis*, aunque no existen registros de detección del parásito de esta especie colectados en campo. Además *L. cruciata*, *L. diabolica*, *L. shannoni*, *L. oppidana* y *L. texana* pueden muy probablemente, estar actuando también como transmisores de *Leishmania* (Sánchez-Tejeda *et al.* 2001) La forma cutánea de la enfermedad ocurre principalmente en los estados de Campeche, Quintana Roo, Tabasco, Oaxaca y Chiapas. Otros casos se han reportado en los estados de Tamaulipas y Nayarit (Sánchez-Tejeda *et al.* 2001).

A lo largo de la frontera entre México y Estados Unidos, la forma cutánea de la enfermedad se ha registrado en la zona semiárida del hábitat de matorral de Sonora y de las Provincias bióticas de Tamaulipas (Kerr *et al.* 1995; 1999) en este sitio, *Lutzomyia diabolica* y *Lutzomyia anthophora* son los vectores sospechosos (McHugh *et al.* 1993).

### **2.15 Reservorios de *Leishmania spp.* en México**

El parásito causante de los casos registrados en pacientes *Leishmania spp.* ha sido aislado en mamíferos domésticos como perros (Velasco-Castrejón *et al.*

2009). Otros registros han sido en roedores silvestres como *Sigmodon hispidus*, *Oryzomys melanotis*, *Ototylomys phyllotis* y *Peromyscus yucatanicus* (Canto-Lara *et al.* 1999; Van Wynsberghe 2000). Los roedores son muy importantes en el ciclo de transmisión de *Leishmania*, debido a que juegan un papel fundamental en el proceso zoonótico, y a sus características biológicas y ecológicas que pueden estar directamente relacionadas con el ciclo de la infección (González 2010).

## **2.16 Condiciones ecológicas que inciden en la presencia de casos de Leishmaniosis**

Las alteraciones ecológicas de origen antropogénico al modificar los ecosistemas, el establecimiento de monocultivos, y por consiguiente la destrucción de los hábitats de los depredadores de roedores, además de otros fenómenos naturales como inundaciones y el cambio climático, han provocado el aumento en las poblaciones de reservorios, incremento de las áreas de dispersión y cambios en las distribuciones altitudinales de roedores como *Oryzomys*, *Sigmodon* y *Rattus* (Colazo y Castro 1997) ya que se ha reportado que son los principales reservorios de *Leishmania spp.* lo que incide en la prevalencia de la dinámica de patógenos asociados a estos reservorios por co-adaptación y co-evolución (Reyes y Arrivillaga 2009). La Leishmaniosis se presenta en bosques tropicales húmedos y semidecíduos en regiones semiáridas y bosques altamente intervenidos por actividades de ganadería y agricultura (González *et al.* 2006). Otro factor importante es el surgimiento de nuevos reservorios y nuevos vectores (Gallegos 2004). Además, las condiciones sociales influyen para que se presenten casos humanos ya que está asociada a la pobreza (OPS 2006) (**figura 7**).

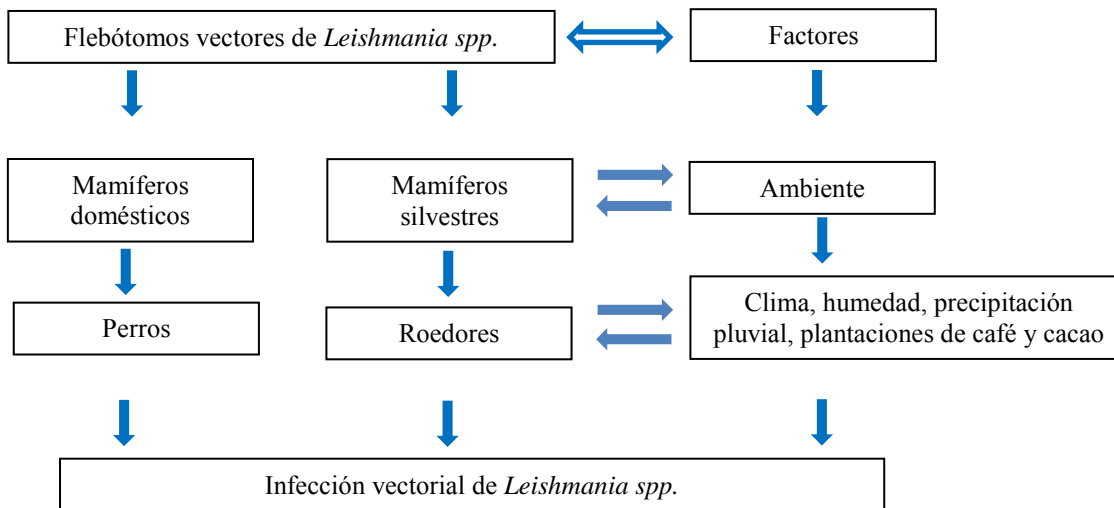


Figura 7. Condiciones ecológicas que inciden en la presencia de Leishmaniosis

### 3. JUSTIFICACIÓN

Las tres zoonosis en estudio son de gran relevancia tanto por su impacto en salud pública, así como por su importancia económica. La presencia del ciclo ecológico de la enfermedad de Chagas, Leishmaniosis y la enfermedad de Lyme puede estar desarrollando en la región de Los Tuxtlas debido a diversos aspectos ecológicos y sociales. Sin embargo, la información disponible para la zona de estudio está más relacionada con aspectos clínicos de la enfermedad de Chagas. No obstante, en el caso de la enfermedad de Lyme y Leishmaniosis no hay prácticamente ningún tipo de estudio en la región y relativamente pocos en México. Además, este estudio es relevante ya que es el primero en su tipo en investigar el ciclo completo de tres zoonosis a la vez. Por lo tanto, permitirá conocer que especies están participando activamente en el proceso de infección de las tres zoonosis, así como los factores ecológicos que intervienen en la

misma. Complementariamente se documentaron las variaciones estacionales en la abundancia y riqueza de reservorios y vectores potenciales.

#### **4. HIPÓTESIS**

Las especies de hospederos potenciales (roedores y murciélagos) que están en simpatria con las especies de vectores potenciales (*Triatoma*, *Lutzomyia*, *Ixodes* y *Amblyomma*) están infectados con uno, dos o los tres parásitos (*Trypanosoma cruzi*, *Leishmania spp.* y *Borrelia burgdorferi*).

#### **5. OBJETIVO**

Analizar la dinámica ecológica y determinar la presencia de *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania spp.* y *Borrelia burgdorferi* en reservorios y vectores potenciales en la región de Los Tuxtlas, Veracruz.

##### **5.1 Objetivos específicos**

- Determinar la presencia, de los parásitos *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania spp.* y *Borrelia burgdorferi*, en roedores, murciélagos, lutzomyias triatomínicos y garrapatas colectados, mediante PCR.
- Caracterizar la dinámica temporal de los reservorios y vectores de las tres zoonosis analizadas.

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1 Sitio de estudio

La Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas” (EBTLT) del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) se localiza a  $95^{\circ} 04' 95^{\circ} 09'$  de longitud oeste y a  $18^{\circ} 34' 18^{\circ} 36'$  de latitud norte la cual forma parte del volcán San Martín Tuxtla en Veracruz, México (León-Villegas 2009). Tiene una superficie de 640 hectáreas. Y presenta un rango altitudinal de los 150 a 650 m.s.n.m. (Coates-Estrada y Estrada 1986) (**figura 8**).



Figura 8. Sitio de estudio: Estación de Biología Tropical “LosTuxtlas” (EBTLT)

### 6.2 Vegetación

El tipo de vegetación es selva alta perennifolia (Miranda y Hernández 1963). Estructuralmente este tipo de vegetación es muy complejo, tiene una notable variedad de formas de vida ya que presenta árboles de talla enorme, mediana y

pequeños, lianas, trepadoras herbáceas, palmas, arbustos, hierbas umbrófilas y árboles estranguladores (Castillo-Campos y Laborde 2004). En el estrato inferior de la selva (0 a 10m de altura) es notable la abundancia de palmas, siendo la predominante *Astrocaryum mexicanum* (Arecacea) (Coates-Estrada y Estrada 1986).

### **6.3 Fauna**

La región de Los Tuxtlas cuenta con una gran riqueza de especies de diversos grupos de animales, existen 561 de aves (Shaldach y Escalante Pliego 1997), 43 de anfibios, 106 de reptiles (Pérez-Higareda *et al.* 1987) y 118 especies de mamíferos (León-Villegas 2009). Además, de una alta riqueza de invertebrados de todos los grupos.

### **6.4 Clima**

La zona de la Estación es muy lluviosa, es una de las cinco áreas del país en donde la precipitación media supera los 4,000 mm<sup>3</sup> anuales (Soto 2004). Específicamente en la zona de la Estación hay una precipitación media anual de 4900 mm<sup>3</sup>. Esta precipitación es de naturaleza estacional, con una “época de secas” entre marzo y mayo, durante la cual la precipitación media mensual es de 486.2 +/- 87.0 mm<sup>3</sup>. De septiembre a febrero el área de la Estación está afectada por el desplazamiento de masas de aire frío y húmedo provenientes del norte que son conocidos como “nortes”, y aportan cerca del 15% de la precipitación promedio anual y producen descensos graduales en la temperatura ambiental. (Coates-Estrada y Estrada 1986). Sin embargo, es muy importante mencionar que



en los últimos diez años se ha detectado una marcada baja de precipitación pluvial de hasta 1000 mm<sup>3</sup> anuales (Coates com. pers. 2013).

## **6.5 Diseño experimental**

### **6.6 Colectas y procesamiento de reservorios y vectores**

Se trabajó en un cuadrante con una extensión de una hectárea. El protocolo de salidas de campo para la captura de mamíferos y artrópodos incluyó ocho salidas bimensuales, para completar el muestreo de un ciclo anual, abarcando la época de lluvias y de secas, comenzando en el mes de octubre del 2011 y finalizando en mayo de 2013.

### **6.7 Captura de roedores**

Para la captura de roedores se colocaron 100 trampas Sherman (**foto 1**) plegables de aluminio de dimensiones 75 x 90 x 230mm, en un cuadrante, con una separación entre líneas y trampas de 10 metros cubriendo una superficie total de una hectárea 10,000 m<sup>2</sup>. Como cebo se utilizó una mezcla de avena con vainilla. Se colocaron poco antes del anochecer (18:00) y se revisaron por la mañana (7:00). Todos los individuos capturados en este cuadrante fueron extraídos del mismo, y posteriormente se les llevó al laboratorio para su procesamiento. Se realizaron tres noches de colecta por cada salida haciendo un esfuerzo de muestreo de 24 noches y 2400 trampas/noche para todo el ciclo de muestreos.



Foto 1. Trampa Sherman utilizada para la colecta de roedores (foto R. León)

### 6.8 Murciélagos

Para la captura de murciélagos se colocaron dos redes de niebla de 6x3 y 12x3 m de largo por ancho respectivamente (**Foto 2**). Se eligieron estas dimensiones por su versatilidad para ser usadas tanto en sitios abiertos como en sitios de vegetación cerrada. Fueron colocadas entre la vegetación, y sobre cuerpos de agua superficiales con el fin de maximizar la captura de individuos que utilizan el sotobosque o los cuerpos de agua. Las redes estuvieron activas desde la hora del crepúsculo y hasta cumplir 5 horas de muestreo (18:00 a las 23:00 h.). Los individuos capturados fueron extraídos de la red y colocados en bolsas de manta para su posterior identificación taxonómica, medición, disección y preservación de tejidos.

Se realizaron tres noches de colecta por cada salida haciendo con esto un esfuerzo de muestreo de 24 noches. Con un total de 120 horas/red por todo el estudio.



Foto 2. Red de niebla utilizada para la colecta de murciélagos (foto de C. Cañeda Guzmán)

### **6.9 Procesamiento de las colectas de roedores y murciélagos**

Todos los organismos capturados fueron sacrificados. La captura, manejo y sacrificio de los organismos se realizó cumpliendo las directrices de la Sociedad Americana de Mastozoología para el uso de mamíferos silvestres en investigación (Sikes *et al.* 2011). A todos los roedores y murciélagos capturados se les registraron los siguientes datos: especie, sexo, edad, condición reproductiva, medidas merísticas convencionales (longitud total, longitud de la cola, longitud de la pata, longitud de la oreja, peso y en el caso de los murciélagos, el peso y el largo del antebrazo). Posteriormente se examinaron para detectar ectoparásitos y en caso de tenerlos se preservaron en alcohol al 70%.

### **6.10 Obtención de tejidos**

De cada uno de los organismos se tomaron pequeños fragmentos de diferentes órganos. Para la búsqueda de *T. cruzi*, se colectaron: corazón e hígado; para *B. burgdorferi*: corazón, hígado, bazo, vejiga (cuando estuvo plétora) y para *Leishmania*: corazón, hígado y piel (**foto 3**). Todos los tejidos fueron

preservados en nitrógeno líquido a  $-70^{\circ}\text{C}$ . o en etanol al 70% para los estudios moleculares.



Foto 3. Trabajo de campo y obtención de tejidos

### **6.11 Cuadrante de experimentación método de “spool and line” (carrete y cordel)**

El método “spool and line” ha sido utilizado para registrar los desplazamientos de mamíferos pequeños (principalmente roedores). Este método consiste en colocar una bobina de hilo a un animal, el otro extremo del hilo se amarra a una roca o rama en el punto de liberación. El hilo se va desenrollando a medida que los animales se mueven a través de la vegetación (Boonstra y Craine 1985). La técnica “spool and line” puede ser una alternativa para medir la distancia de movimiento de algunas especies de mamíferos pequeños. Fue usado por primera vez por Miles et al. (1981) para rastrear pequeños mamíferos, área de distribución y selección de nido.

Se colocaron 50 trampas Sherman, en un cuadrante, separadas 10 metros entre líneas y 10 metros entre trampas, abarcando un área total de media hectárea.

Este cuadrante tuvo el propósito de documentar las interacciones de triatominos, lutzomyias y garrapatas con ratones en sus madrigueras. Una vez capturados los roedores se registraron los siguientes datos: identificación taxonómica, sexo, edad, condición reproductiva, peso y presencia de parásitos. Los ectoparásitos se conservaron en viales con alcohol al 70% previamente etiquetados con los datos del hospedero. Posteriormente, se les colocó a los roedores un “spooling” el cual fue adherido al dorso del animal (**foto 4**), esto con el fin de que al ir avanzando el animal dejara el hilo del “spooling” en su camino (**foto 5**), y de esta manera seguirlo hasta ubicar la madriguera del mismo. Una vez localizada (**foto 6**) se excavó en los casos en que se consideró viable llegar hasta la recámara de la madriguera, ya que en la gran mayoría de los individuos capturados, sus madrigueras se encontraban en contrafuertes de grandes árboles, haciendo eso inviable la excavación.



Foto 4. “Spooling” colocado en el dorso de un roedor colectado (foto A. Rodríguez-Moreno).



Foto 5. Roedor ya con el “spooling” colocado yendo hacia su madriguera (foto A. Rodríguez-Moreno).



Foto 6. Roedor entrando a su madriguera (foto A. Rodríguez-Moreno)

## **6.12 Captura de vectores (triatominos, lutzomyias y garrapatas)**

### **6.12.1 Triatomas**

Estos insectos fueron colectados mediante trampas de luz y búsqueda directa en sitios domiciliarios y peri domiciliarios en viviendas que presentaban techos de palma, piso de tierra, leña acumulada, además de perros, cerdos, vacas y gallinas (**foto 7**). La mayoría de estas colectas en el intra y peri domicilio, fueron realizadas por los mismo habitantes de esta comunidad de Laguna Escondida. En

cada una de las salidas de campo se les dejaban botes con alcohol al 70% y en la posterior salida se recogían estos botes con los triatominos que hubieran colectado y así sucesivamente. Posteriormente de recogidas las chinches en los botes, se preservaron individualmente en alcohol al 70%, se etiquetaron, identificaron taxonómicamente y se sexaron solo los individuos adultos ya que en ninfas esto no es posible.



Foto 7. Vivienda típica del sitio de estudio en donde fueron colectados triatominos.

### **6.12.2 Lutzomyias (flebótomos)**

Para la captura de flebótomos se colocaron diez trampas CDC (CDC Miniature Light Trap Model 512 by Jhon W. Hock Company), que utilizan luz como atrayente. Las trampas estuvieron activas en promedio 6 horas de las 18:00 a las 23:00 horas (**foto 8**). Una vez retirados los recipientes colectores de las trampas, estos fueron colocados en refrigeración para reducir la actividad de los insectos colectados y proceder a la separación de lutzomyias, los cuales se conservaron en viales con alcohol al 70%, fueron sexados y se realizaron laminillas permanentes para la identificación mediante claves taxonómicas Ibáñez-Bernal (2005) y Young y Duncan (1994).



Foto 8. Colocación de trampa CDC para la colecta de flebótomos. (Foto R. León)

### **6.12.3 Ixodes y Amblyommas (garrapatas)**

Las colectas de las garrapatas se realizaron directamente de los mamíferos capturados, mediante una inspección visual y bajo el estereoscópico; una vez detectada una garrapata, se sujetó con pinzas de punta fina para extraerla completa y se depositó en tubos Eppendorf® con alcohol al 70%. Posteriormente, se realizó la identificación en la Colección Nacional de Ácaros del Instituto de Biología (CNAC). Los ejemplares identificados fueron depositados en la Colección Nacional de Ácaros del Instituto de Biología, UNAM.

## **6.13 Detección de parásitos por PCR**

### **6.13.1 *Trypanosoma cruzi***

Para la detección de *T. cruzi* en mamíferos se analizaron los tejidos de corazón e hígado. Este análisis molecular se realizó con apoyo de la Dra. Peggy Billingsley de North Texas University, Health Science Center Tick- Borne Disease Research Lab. Los iniciadores utilizados para la amplificación de la PCR fueron los siguientes: S34 5' - ACA CCA ACC CCA ATC GAA CC - 3' y S67 5' - TGG TTT TGG GAG GGG SSK TC - 3'. Estos iniciadores están diseñados para amplificar



la región constante del DNA del cinetoplasto (Mota *et al.* 2007). Para realizar la PCR se utilizaron 10 ng de DNA genómico en un volumen total de 50 µL. Como control positivo se utilizó DNA de *T. cruzi* obtenido de la cepa 800394 aislada de un triatomino (*Triatoma pallidipennis*). El DNA se amplificó a 94° C por 4 minutos, seguido por 35 ciclos de desnaturalización (94° C por 30 segundos), alineamiento (60° C por 30 segundos) y extensión (72° C por 30 segundos), además de un paso de extensión final a 72° C por 10 min. El producto de la amplificación se analizó en un gel de agarosa al 1%, posteriormente fue teñido con bromuro de etidio y visualizado bajo luz ultravioleta.

#### **6.13.2 *Leishmania spp.***

Los análisis para detectar la infección con *Leishmania* en los flebótomos fueron realizados en el Laboratorio de Inmunoparasitología de la Unidad de Medicina Experimental (UNAM) en el Hospital General de México, con el apoyo de la Dra. Ingeborg Becker. Las hembras de flebótomos se separaron individualmente y se colocaron en viales con alcohol al 70% a 4° C, hasta su procesamiento para PCR. Para la extracción del DNA sólo se analizaron el tórax y el abdomen de cada una de las lutzomyias hembras. De acuerdo con el protocolo de Cabrera *et al.* (2002), se maceraron los flebótomos almacenados en alcohol al 70%. Para determinar si la lutzomyia estaba infectada con *Leishmania*, se utilizaron los oligos diseñados por Kato *et al.* (2005). Se realizó la extracción del DNA de cada lutzomyia, se cuantificó y se prosiguió con la PCR. Primero se analizaron “pools” de 5 individuos de los cuales se tomaron 3 µl de DNA. En el caso de los oligos LMC-1S/1R se tomaron 10 µl de cada “pool”. En caso de resultar un “pool”

positivo a *Leishmania*, se realizó una PCR individual de cada mosca del “pool”, tomando para este PCR 5 µl que no se alcanzó a cuantificar. Estos oligos fueron diseñados con base en secuencias conservadas entre las especies del kDNA (minicírculos del cinetoplasto). LMC-1S 5'-CTR GGG GTT GGT GTA AAA TAG-3' y LMC-1R 5'-TWT GAA CGG GRT TTC TG-3'. El DNA se amplificó por 30 ciclos y se obtuvo una banda de 700 pb.

La especie de *Leishmania* fue identificada de acuerdo a las secuencias conservadas del ITS (Internal Transcribed Spacer, por sus siglas en inglés) del gen rRNA. Estos iniciadores fueron diseñados para la discriminación entre las especies de *Leishmania*, en el cual se utilizaron los oligos IR1 y LM17. Los oligonucleótidos IR1 corresponden a los 32 nucleótidos finales de las secuencias conservadas de la región 3' de la subunidad pequeña 18S del gene ribosomal (5'-GCTGTAGGTGAACCTGCAGCAGCTGGATCATT-3').

Como control positivo se utilizaron las secuencias de referencias de *Leishmania*.

Todos los productos de PCR fueron analizados en geles de agarosa al 1.5% y teñidos con bromuro de etidio y revelados bajo luz ultravioleta.

### **6.13.3 *Borrelia burgdorferi***

Para el análisis molecular, las muestras de tejido de corazón e hígado de mamíferos fueron enviados a North Texas University (Health Science Center Tick-Borne Disease Research Lab) (**foto 9**). Todas las muestras se preservaron individualmente en etanol al 70 % y se almacenaron a -70° C hasta el análisis de PCR. Se extrajo el ADN de cada una de las muestras de tejido utilizando la purificación de ADN total (Columna de Spin) siguiendo el protocolo para sangre

DNeasyTissue Kit ® y (Qiagen, Valencia, CA). Se extrajeron entre 23-25 mg de cada muestra de tejido de corazón e hígado, posteriormente, se pesaron y se colocaron en un tubo individual estéril de 1.5 mL (Eppendorf ®). Cada muestra de tejido se lavó dos veces en 500 mL de PBS durante 5 minutos, antes de la extracción. Una vez lavado se eliminó el PBS y se añadió a cada tubo la solución de proteinasa K (para lisis). Las muestras de tejido se incubaron a 56° C durante toda la noche. Posterior a la incubación, se continuo con el protocolo de extracción DNeasy ® de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. La flagelina de *B. burgdorferi* amplifica un producto de 641 pb. Se utilizaron los siguientes iniciadores específicos para *Borrelia* basados en Barbour *et al.* (1996): FlaLL (5' - ACATATTCAGATGCAGACAGAGGT-3') y FlaRL (5'- GCAATCATAGCCATTGCAGATTGT - 3'). Como control positivo se utilizó un plásmido que contiene el fragmento clonado del gen de *B. burgdorferi*. Los parámetros de los ciclos de la PCR fueron los siguientes: 95 °C durante 5 min, seguido por 46 ciclos a una temperatura de 95° C durante 1 min, 55° C durante 1 min y 72° C durante 1 min, y una etapa de extensión final a 72° C durante 7 minutos (UNTHSC Tick-Borne Disease Research Lab). Finalmente, utilizando una PCR anidada se observó el fragmento interno de 330 pb. Se utilizaron los siguientes iniciadores: FlaLS ( 5'- AACAGCTGAAGAGCTTGGAAATG - 3 ') y FlaRS (5'- CTTTGATCACTTATCATTCTAATAGC - 3').

Las reacciones de la PCR iniciales se realizaron en ensayos de 25 µL (5.75 µl de agua, 2.5 µl de tampón 10X ThermoPol ™ New England Biolabs, Ipswich y MA, 2.0 µl de dNTP [2.5 mM / dNTP]), 1µL de iniciadores (5µM), 2.5 µl de BSA 1mg/mL, 0.25µL de ADN Taq polimerasa (5 U / l, New England Biolabs), y 10 µl de

ADN. Los ensayos de la PCR anidada fueron idénticos a los ensayos iniciales con la excepción de que 1  $\mu$ l de producto de PCR fresco de las reacciones iniciales se añadió como templado, añadiendo 9  $\mu$ l de agua, para llevar el volumen final a 25  $\mu$ l. La configuración de la PCR se realizó en una cabina de seguridad biológica de tipo B clase II, se limpió con un 0.6 % de hipoclorito de sodio antes y después de cada uso, el procesamiento de las muestras se llevó a cabo en áreas separadas, pre-PCR y post-PCR para evitar la contaminación.

Los amplicones se separaron por electroforesis en gel de agarosa y se tiñeron con colorante Gel Red <sup>TM</sup> (Phenix, Candler, Carolina del Norte). Los productos se visualizaron con luz UV utilizando un sistema de imagen transiluminador EC3 (UVP Bio Imaging Systems, Upland, CA). Las muestras positivas con los mismos pb que el control positivo se trataron a continuación con 1 U/ $\mu$ L Exo SAP -IT (Affymetrix, Santa Clara, CA) para eliminar cualquiera de los iniciadores no incorporados antes de la secuenciación.

La secuenciación del ADN se realizó utilizando el v3.1 Ciclo de Secuenciación Kit Terminator (Life Technologies, Carlsbad, CA) Big Dye <sup>®</sup>. El ciclo térmico se ajustó de acuerdo con los siguientes parámetros: 96° C durante 3 minutos, 25 ciclos de 96° C durante 15 s 50° C durante 10 s y 60° C durante 4 minutos. Los iniciadores no incorporados se eliminaron utilizando columnas de filtración Performa Gel DTR (Applied Edge, Gaithersburg y MD), de acuerdo con el protocolo del fabricante. La electroforesis capilar y el análisis de la secuencia se llevaron a cabo en un Sequencher software v4.8 (Gene Codes, Ann Arbor and MI) (Applied Biosystems) PRISM <sup>®</sup> 310 o 3130xl Genetic Analyzer. Los datos de la secuencia final editados

se compararon con secuencias de referencia publicados en la base de datos GenBank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>)



Foto 9. Análisis por PCR de los tejidos colectado de mamíferos para detectar *Borrelia burgdorferi* en la North Texas University (Health Science Center Tick-Borne Disease Research Lab).

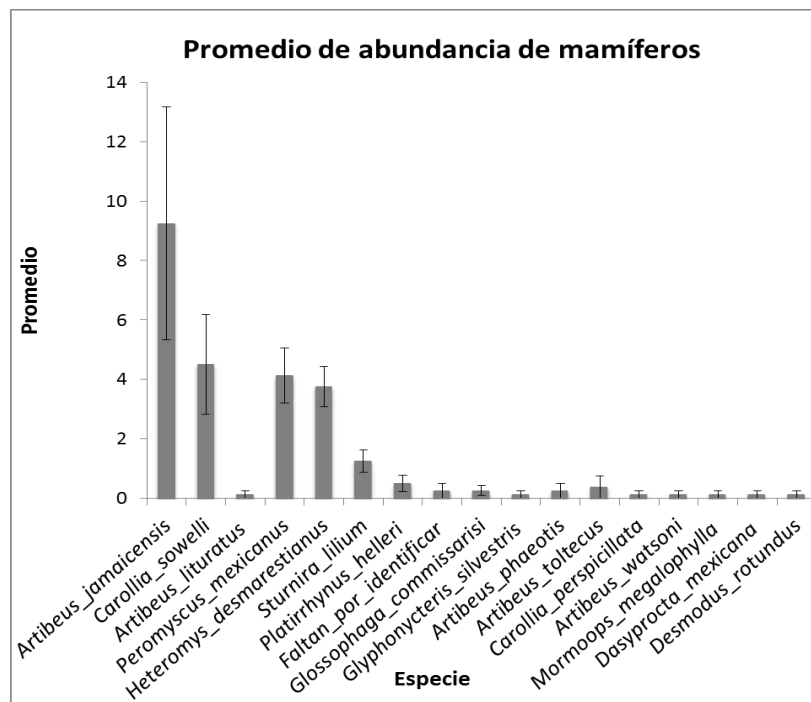
## 7. RESULTADOS

### 7.1 Mamíferos

Fueron colectados un total de 204 individuos correspondientes a cinco familias (Muridae, Agoutidae, Geomyidae, Phyllostomidae y Moormophidae) de los órdenes Rodentia y Quiróptera (**Gráfica 1**). En particular, se capturaron 66 individuos de roedores de tres especies (*Peromyscus mexicanus*, *Heteromys desmarestianus* y *Oryzomys spp.*). Las especies más abundante fue *P. mexicanus* (33). En el caso de los murciélagos se colectaron 138 individuos de 14 especies, siendo la más abundante *Artibeus jamaicensis* (74) (**Gráfica 2**).



Gráfica 1. Número de individuos de las diferentes especies de mamíferos capturados en todo el estudio



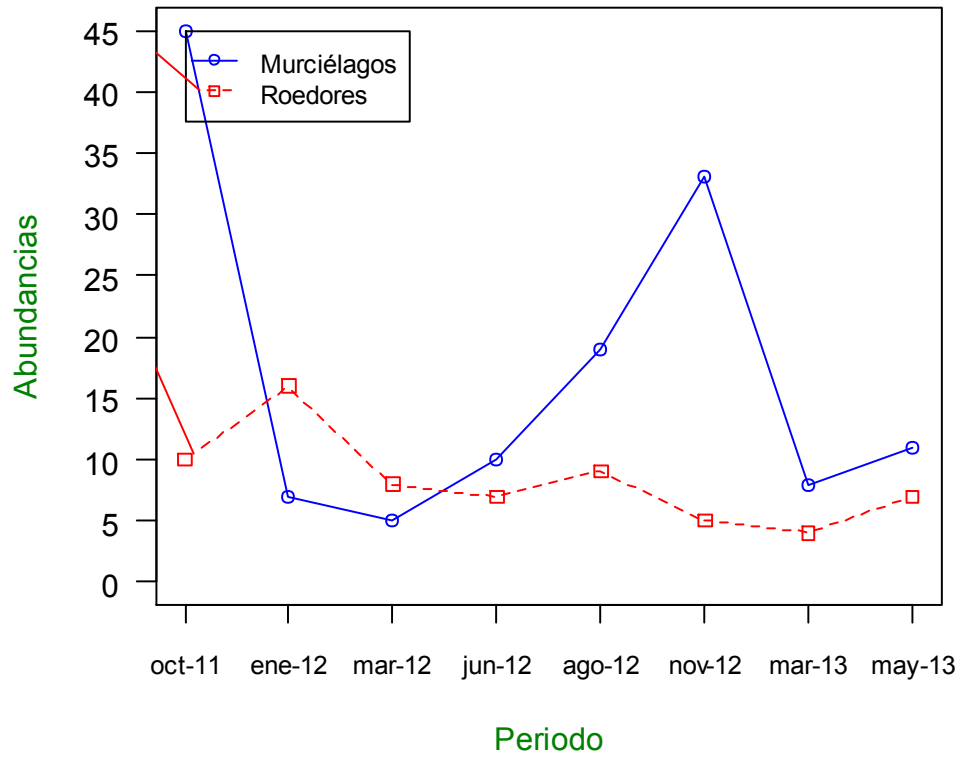
Gráfica 2. Promedio de abundancias de las diferentes especies de mamíferos colectadas por todo el muestreo

### 7.1.1 Abundancias de mamíferos por periodo de muestreo

Las colectas de mamíferos fueron más abundantes en los muestreos de octubre (2011) y noviembre (2012). En contraste, en marzo (2012 y 2013) se obtuvieron las colectas más bajas (**Gráfica 3**). Para determinar los periodos de mayor y menor abundancia se realizó un análisis de Kruskal-Wallis con el

programa estadístico “R”. Sin embargo, debido a que las variaciones entre las abundancias de los diferentes muestreos fueron tan diferentes, se obtuvo un resultado no significativo Kruskal-Wallis chi-squared= 7, df= 7 p,value= 0.4289.

### Abundancia de mamíferos por periodo de colecta



Gráfica 3. Abundancias de roedores y murciélagos por periodo de colecta.

## 7.2 Artrópodos

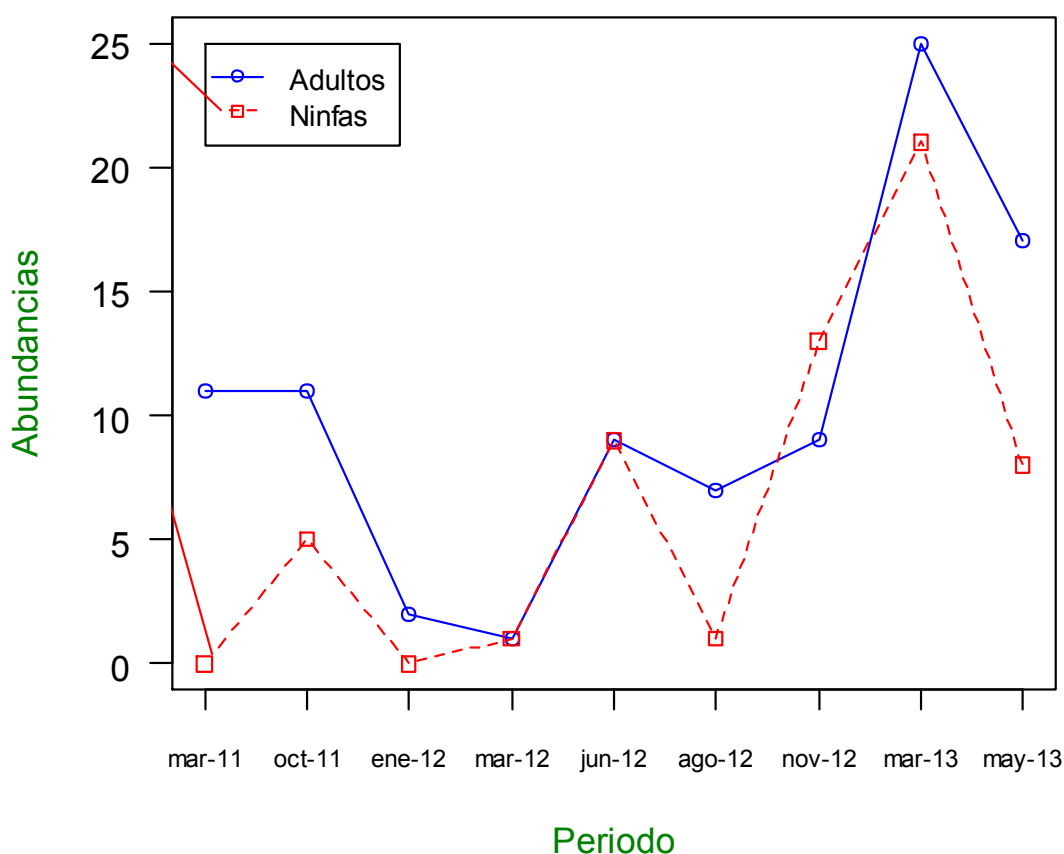
### 7.2.1. Triatomas

Fueron colectadas 150 triatomas de dos especies: 142 individuos de *Triatoma dimidiata* (95%) y ocho de *Panstrongylus rufotuberculatus* (5%).

### 7.2.2 Abundancias de Triatominos

Para determinar los periodos de mayor y menor abundancia se realizó un análisis de Kruskal-Wallis. Sin embargo, debido a que las variaciones de entre las abundancias de los diferentes muestreos fueron tan diferentes, se obtuvo un resultado no significativo Kruskal-Wallis chi-squared=8, df = 8, p-value = 0.4335. El periodo en que se registró la mayor abundancia de ambas especies fue marzo y mayo (2013). Los muestreos en el que menos registros se obtuvieron fue enero (2012). Además, fueron colectados más individuos adultos que ninfas en todo el estudio (**Gráfica 4**). *Triatoma dimidiata* fue más abundante que *P. rufotuberculatus* (**Gráfica 5**).

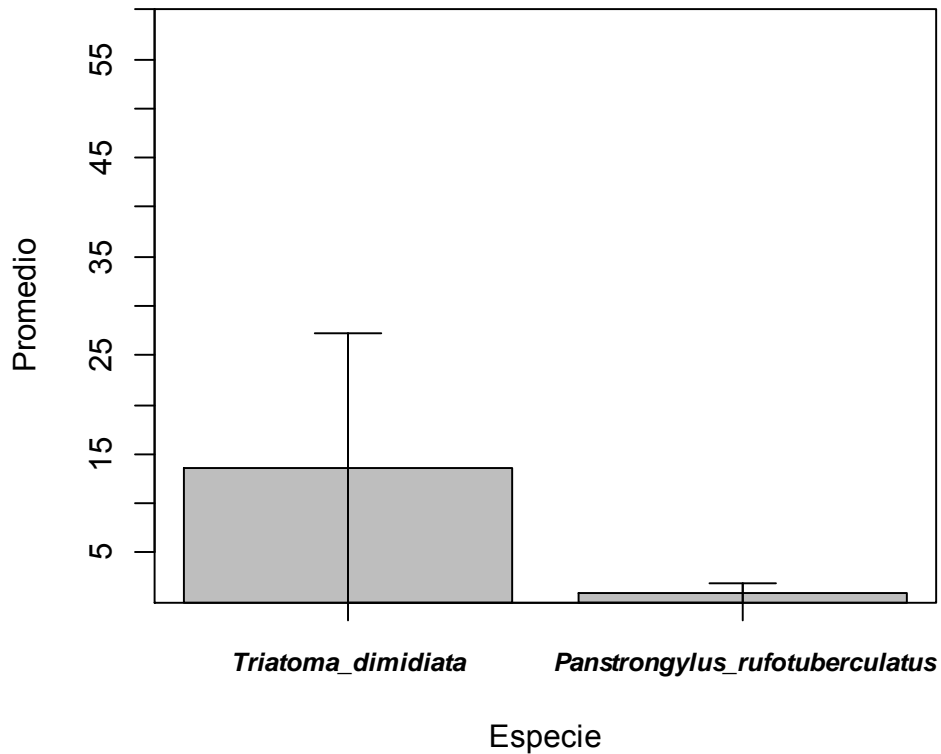
### Abundancia de triatominos por periodo de colecta



Gráfica 4. Número de individuos de las dos especies de triatominos colectadas en los nueve diferentes periodos de muestreo.



### Promedio de abundancias de triatominos

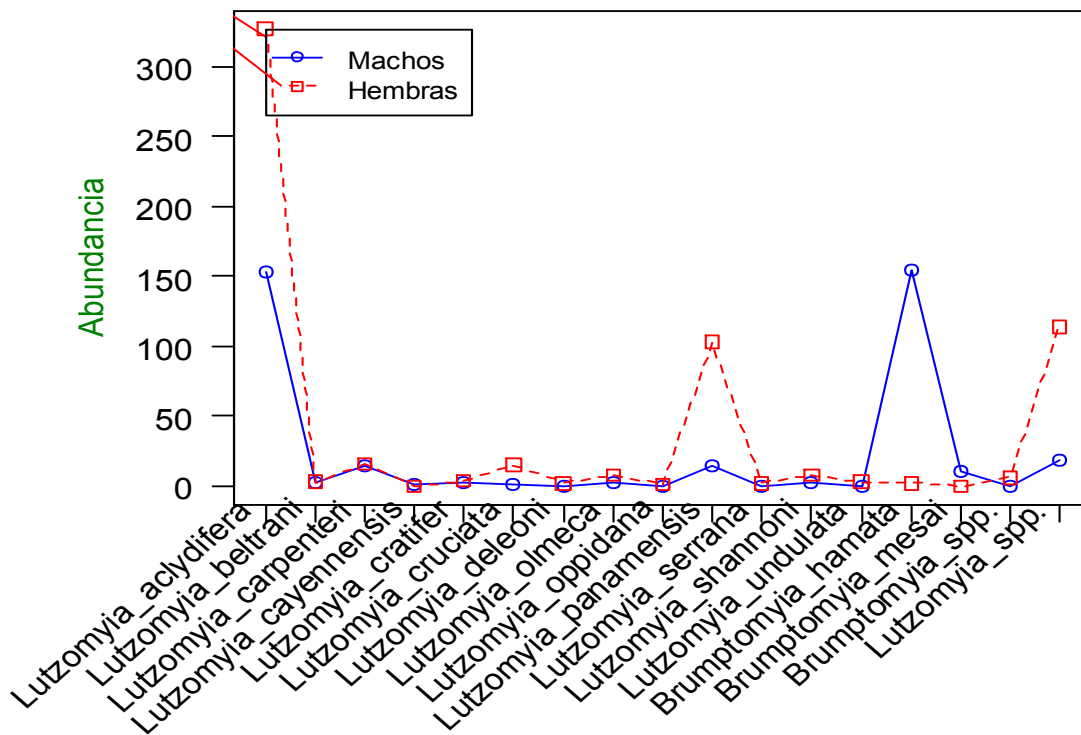


Gráfica 5. Promedio de abundancias de las dos especies de triatominos colectados por todo el estudio

### 7.3 Flebótomos

Fueron colectados 1003 flebótomos de 15 especies. 60% de los registros totales fueron hembras y 40% machos. Las especies más abundantes fueron *Lutzomyia aclydifera* con 50%, seguida de *Brumptomyia hamata* con 15% y *Lutzomyia panamensis* con el 10%. Además, se registró que una especie fue la dominante, dos se clasificaron como comunes y doce fueron raras (Peet 1974). (Gráfica 6) (Tabla 8).

## Abundancias de lutzomyias por sexo y especie



Gráfica 6. Número de individuos por especie de flebótomos colectados.

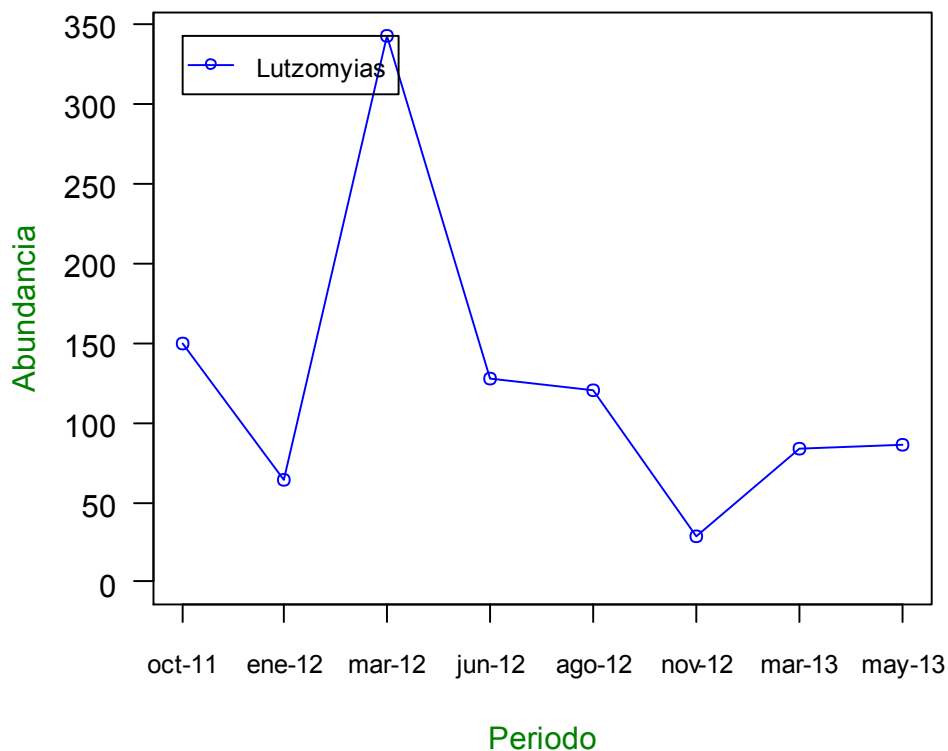
Tabla 8. Caracterización de las colectas de flebótomos

<b>Número total de especies de flebótomos colectados</b>	<b>15</b>
<b>Número total de flebótomos (♀/♂)</b>	1003 (614/389)
<b>Especies dominantes (&gt;50%)</b>	<i>Lutzomyia aclydifera</i>
<b>Especies comunes (&lt;50% &gt;10%)</b>	<i>Lutzomyia panamensis</i> y <i>Brumptomomyia hamata</i>
<b>Especies raras (&lt;10%)</b>	<i>Lu. beltrani</i> , <i>Lu. carpenteri</i> , <i>Lu. cratifer</i> , <i>Lu. cruciata</i> , <i>Lu. cayennensis</i> , <i>Lu. deleoni</i> , <i>Lu. olmeca</i> , <i>Lu. oppidana</i> , <i>Lu. serrana</i> , <i>Lu. shannoni</i> , <i>Lu. undulata</i> y <i>B. mesai</i>
<b>Máximo de especies colectadas (mayo 2012)</b>	10
<b>Mínimo de especies colectadas (mayo 2013)</b>	5

### 7.3.1 Abundancias de flebótomos por periodos de colecta

Para determinar los periodos de mayor y menos abundancia se realizó un análisis de Kruskal-Wallis con el programa estadístico “R”. Sin embargo, debido a que las variaciones de entre las abundancias de los diferentes muestreos fueron tan grandes, se obtuvo un resultado no significativo Kruskal-Wallis  $\chi^2=7$ ,  $df = 7$ ,  $p\text{-value} = 0.4289$ . El muestreo de marzo (2012) fue en el que más individuos se registraron, seguido de junio (2012). El periodo que más baja abundancia presentó, fue noviembre (2012) (**Gráfica 7**).

#### Abundancias de lutzomyias por periodo de colecta

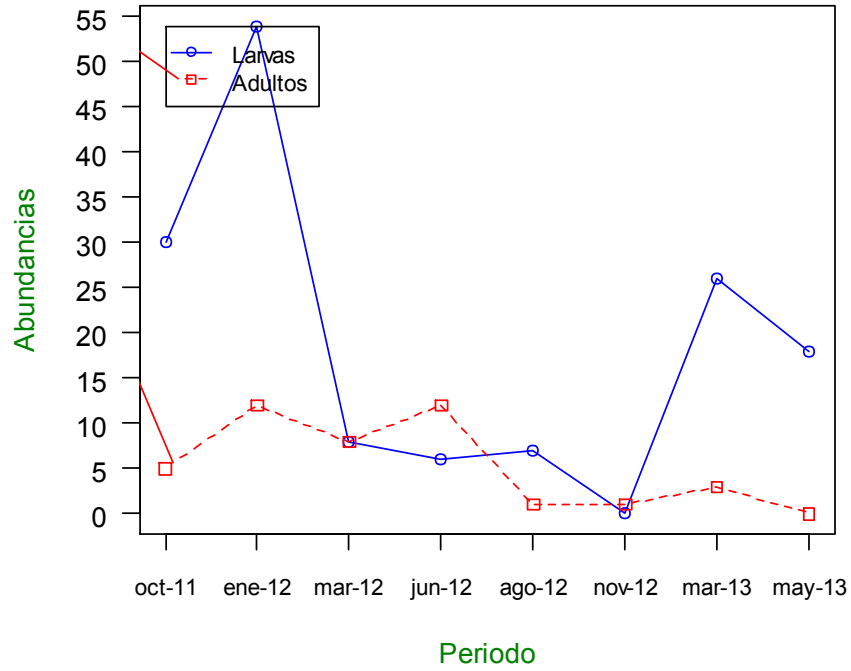


Gráfica 7. Abundancias totales de flebótomos colectados por periodos de colecta.

## 7.4 Garrapatas

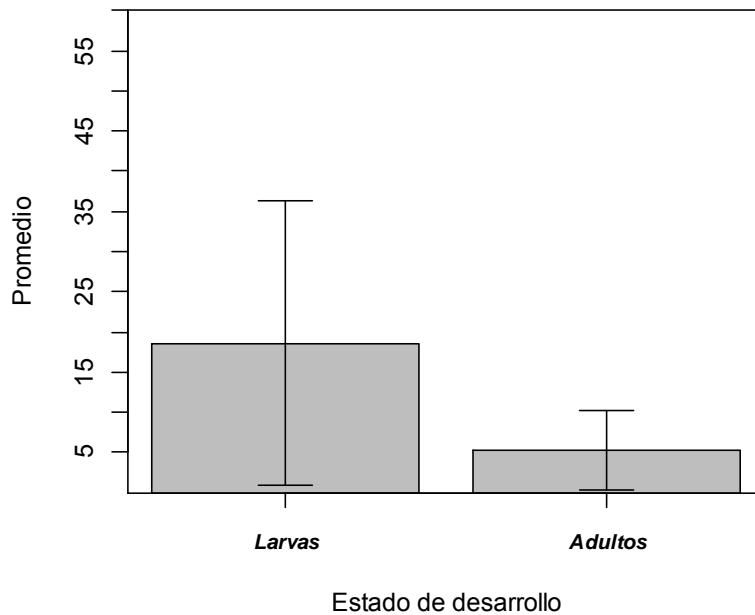
Se colectaron 189 individuos de garrapatas, 82% (149) fueron larvas y el 18% (42) adultos sobre las diferentes especies de mamíferos estudiadas. Además, se colectaron cuatro individuos de *Amblyomma cajennense* sobre una persona del sexo masculino de la localidad de Laguna Escondida (San Andrés Tuxtla, Veracruz). Hasta el momento se han identificado tres especies: *Ixodes spinipalpis* (2 individuos), *Ixodes spp.* (7 individuos) y *A. cajennense* (4 individuos). Para determinar los periodos de mayor y menos abundancia se realizó un análisis de Kruskal-Wallis con el programa estadístico “R”. Sin embargo, debido a que las variaciones de entre las abundancias de los diferentes muestreos fueron tan diferentes, se obtuvo un resultado no significativo Kruskal-Wallis  $\chi^2=7$ ,  $df = 7$ ,  $p\text{-value} = 0.4289$ . El periodo en el que se colectó el mayor número de individuos, fue durante los muestreos de enero y octubre del (2012). El periodo que más baja abundancia presentó fue noviembre del mismo año (**Gráfica 8**). Se colectaron más individuos de larvas que de adultos en todo el estudio (**Gráfica 9**)

### Abundancias de garrapatas por periodo de colecta



Gráfica 8. Abundancias de larvas y adultos de Ixodidae colectados en los periodos de muestreo.

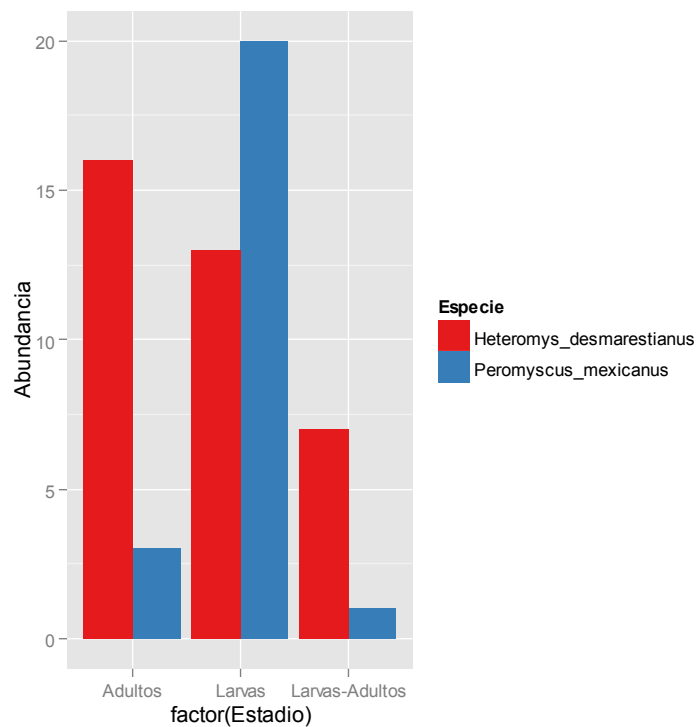
### Promedio de abundancias de garrapatas



Gráfica 9. Promedio de abundancias de garrapatas tanto larvas como adultos.

### 7.4.1 Abundancias de mamíferos parasitados con garrapatas

Se registraron 20 individuos de *Peromyscus mexicanus* infestados con larvas, tres individuos con adultos y uno con larvas y adultos. En el caso de *Heteromys desmarestianus* fueron registrados 13 individuos infestados con larvas de Ixodidae, 16 con adultos y 7 con larvas y adultos. No se encontró ningún individuo de quiróptero infestado (gráfica 10). La prevalencia de *P. mexicanus* infestados con larvas de Ixodidae fue del 60% con adultos del 10% y con larvas y adultos del 30%. *H. desmarestianus* mostró una prevalencia de infestación por larvas de Ixodidae del 40%, de adultos, 50% y 20% tanto de larvas como adultos.



Gráfica 10. Número y especies de roedores ectoparasitados con larvas y adultos de garrapatas.

## **7.5 Análisis de la infección por PCR de *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania spp.* y *Borrelia burgdorferi***

### **7.5.1 Roedores**

Se analizaron 26 individuos (40% del total de individuos de roedores colectados n= 66) de dos especies (*H. desmarestianus* y *P. mexicanus*) para detectar *B. burgdorferi* y *T. cruzi*. El 0.4% (1 individuo) fue positivo a *Borrelia spp.* pero no se detectó *B. burgdorferi* en ningún individuo. El individuo positivo a *Borrelia spp.* pertenece a la especie *H. desmarestianus*. El individuo que resulto positivo para *Borrelia spp.* fue colectado en el mes de enero de 2012, época en la cual se presenta una baja de temperatura y lluvias moderadas en la zona de estudio. Con respecto a *T. cruzi*, ningún individuo de los 26 analizados (40% del total de individuos colectados n= 66) fue positivo.

### **7.5.2 Murciélagos**

Se analizaron 52 individuos (38% del total de individuos colectados n=138) de cuatro especies de murciélagos *Artibeus lituratus* (n=1), *Artibeus jamaicensis* (n=27), *Carollia sowelli* (n=19) y *Sturnira liliium* (n=4) para detectar *B. burgdorferi* y *T. cruzi*.

Se detectó *Borrelia spp.* en el 7% de todos los murciélagos. La prevalencia por especie fue para *C. sowelli* del 42% en *A. jamaicensis* del 11%, en *A. lituratus* y de *S. liliium* ningún individuo fue positivo. Todos los individuos fueron negativos para *B. burgdorferi*.

Los murciélagos que resultaron positivos a la infección por *Borrelia spp.* fueron colectados en los meses de octubre de 2011 y enero de 2012. Siendo octubre el

mes en el cual se presentan las lluvias más abundantes en la zona de estudio y en enero se presenta una marcada baja de temperatura en la zona, así como la presencia de “nortes” y lluvias moderadas. En el caso de los tejidos de mamíferos que fueron positivos para *Borrelia spp.* solo se han analizado el 38.3% (N=204) de los cuales resultaron positivos para *Borrelia spp.* 13 individuos (16.7%) de tres especies de las seis analizadas, cuando el total de las especies de mamíferos capturadas fueron 17.

En el caso de *T. cruzi*, los 52 individuos (38% del total de individuos colectados n= 138) resultaron negativos a la infección.

### 7.5.3 Triatomas

Se analizaron diez individuos de la especie *Triatoma dimidiata* para detectar la presencia de *T. cruzi* mediante PCR, de los cuales el 20% fueron positivos (**foto 10**). Las triatomas analizadas colectadas y de las cuales posteriormente se detectaron infectadas con *T. cruzi* fueron colectadas en el mes de marzo de 2011,

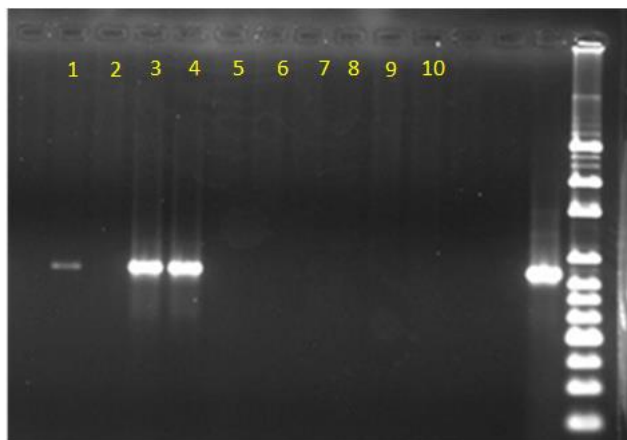


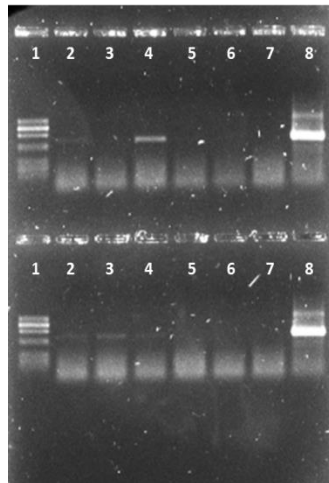
Foto 10. Triatomas positivas para *T. cruzi* (VER03/ VER04). Utilizando los iniciadores S34 5' y S67.



### 7.5.4 Flebótomos

Se analizaron 110 hembras de dos géneros: *Lutzomyia* y *Brumptomyia*. De las cuales el 16% fueron positivas a *Leishmania spp.* Las prevalencia por especie fueron: *Lu. aclydifera* 20% (n=71), *Lu. deleoni* 50% (n=2), *Lu. shannoni* 33% (n=3), *Lu. carpenteri* 25% (n=4) y *Lu. cruciata* 25% (n=4). Las especies negativas a la infección fueron: *Lu. oppidana* (n=1), *Lu. panamensis* (n=8), *Lu. olmeca olmeca* (n=2), *Lu. cratifer* (n=3) y *Lu. serrana* (n=2) (foto 14). Los análisis de las lutzomyias fueron de las colectas de los meses de marzo de 2011 (comienzo de la temporada de secas), en el cual no se registró ningún individuo infectado, octubre de 2011 (mes de mayor abundancia de lluvias) periodo en el cual se registraron 18 (16% n=110) individuos positivos a *Leishmania spp.* y enero de 2012 (mes de “nortes”, lluvias moderadas y temperatura baja) no se registró ningún individuo infectado.

PCR *Lutzomyia*



1.  $\Phi$ X 174 RF DNA/Hae III Fragments
2. Positiva
3. Negativa
4. Positiva
5. Negativa
6. Negativa
7. Negativa
8. CTRL +

1.  $\Phi$ X 174 RF DNA/Hae III Fragments
2. Positiva
3. Positiva
4. Positiva
5. Negativa
6. Negativa
7. Negativa
8. CTRL +

Foto 11. Imagen representativa del PCR realizado a hembras de lutzomyias para detectar *Leishmania spp.* utilizando los iniciadores LMC-1S y LMC-1R obteniendo un producto de 700 pb.

## **8. DISCUSION**

La principal contribución de este trabajo fue documentar la fenología de los murciélagos, ratones, triatominos, lutzomyias y garrapatas reservorios y vectores potenciales de la enfermedad de Chagas, Leishmaniosis y de la enfermedad de Lyme. Además, se detectó a triatominos infectados con *T. cruzi* y a lutzomyias con *Leishmania spp.* Por lo tanto, podemos saber que el ciclo de las zoonosis se está presentando en la zona de estudio. Además, este estudio es relevante debido a que la enfermedad de Chagas y la Leishmaniosis son una de las enfermedades que se ha descuidado su estudio en el país, sobre todo en el sureste de México región en la que más casos se presentan (Hotez 2014). En el caso de la enfermedad de Lyme son prácticamente nulos los estudios acerca de la ecología de esta zoonosis.

### **8.1 Reservorios**

En particular, en el caso de los murciélagos y ratones los picos de abundancia se presentaron en los meses de octubre (2012) y noviembre (2013), debido a que es cuando la precipitación pluvial en la zona es más elevada y existe más disponibilidad de frutos, semillas e insectos con los que se alimentan murciélagos y ratones. En contraste, marzo (2012 y 2013) fue el periodo en el que menos registros de mamíferos se obtuvo, posiblemente debido a que es el periodo de “secas” en la zona de estudio y se presenta menor disponibilidad de alimento para los mamíferos. Además, los resultados que se obtuvieron al respecto

coinciden con otros estudios realizados en la misma selva de “Los Tuxtlas” por Sánchez- Cordero y Flemming (1993), en las que se encontró la mayor abundancia de heterómidos en la época de lluvias. Para los cricétidos también se ha reportado en otras selvas tropicales, que la época de lluvias coincide con su pico de abundancias, debido a que es cuando también se presenta mayor disponibilidad de alimento y condiciones propicias para su reproducción y crecimiento poblacional (Bergallo y Magnusson 1999).

Por otra parte, en el caso de los murciélagos se ha reportado en otras selvas tropicales, que los picos de abundancia de murciélagos filostómidos, se relacionan con la época de lluvias, en la cual se da la fructificación y abundancia de sus diferentes fuentes alimenticias. Además, es en esta época cuando encuentran más sitios de refugio disponibles (Stoner 2001; 2005; Ávila- Cabadilla *et al.* 2014).

En el caso de los análisis realizados en los tejidos de mamíferos para detectar la presencia de *T. cruzi* no se encontró ningún mamífero infectado. Sin embargo, esto no quiere decir que alguno de los mamíferos que restan por analizar no puedan resultar positivos, e inclusive, alguno de los ya analizados, puedan estar infectados en alguno de los otros tejidos que no se analizaron (bazo, pulmón y riñón). Esto, ya que se han reportado especies de murciélagos filostómidos en otros estados del sur de México, como *Carollia perspicillata* infectados con *T. cruzi* (Domínguez y Espinoza 1998). Además, en las colectas de mamíferos, esta familia de murciélagos fue la más representativa con el 67% de las colectas totales. La interacción entre chinches y murciélagos y posible infección de *T. cruzi* en los murciélagos pudiera presentarse debido a los requerimientos alimenticios

de los murciélagos, ya que está reportado que todos los filostómidos, a pesar de que tienen un tipo de alimentación principal (frugívora, nectarívora, polinívora etc.) consumen insectos al menos ocasionalmente, así que la infección de *T. cruzi* en los murciélagos pudiera presentarse, al ingerir las chinches para alimentación (Gardner 1977). Por lo tanto, es importante la realización de los análisis moleculares a los tejidos de los mamíferos que restan, para documentar si *T. cruzi* está interactuando con mamíferos silvestres, ya que posiblemente el ciclo de la enfermedad de Chagas pueda estar desarrollándose en mayor medida en el intra y peri domicilio debido a que en esta área, los triatominos encuentran las condiciones de refugio y microclima, además de los recursos alimenticios como son la sangre de vertebrados domésticos como perros, gatos, cerdos y gallinas para desarrollar todo su ciclo biológico (Ramsey *et al.* 2005; Barbu *et al.* 2013; Dumonteil *et al.* 2013; Villalobos *et al.* 2011).

Además, el hecho de que se registraran triatomas infectadas con *T. cruzi*, hace pensar que el ciclo de la enfermedad de Chagas se desarrolla en la zona de estudio en el peri e intra domicilio donde en todas las casas tienen la presencia de animales domésticos, en especial de perros ya que otros estudios en México, han reportado que el perro es un componente muy importante en la ecología doméstica e infección de la enfermedad de Chagas y por lo tanto participa activamente en el ciclo de contagio vector- humano de *T. cruzi* (Portugal-García *et al.* 2011; Martínez *et al.* 2014). Cabe resaltar que fue precisamente en el intra y peri domicilio en donde se colectaron el 93% de los triatominos. Sin embargo, se deben realizar el análisis de todos los tejidos de triatominos, para documentar la prevalencia en los vectores de *T. cruzi*, en la zona de estudio. Sería importante

continuar con los estudios de los mamíferos silvestres que restan. Además, realizar el análisis en los habitantes de la localidad de estudio para conocer si el ciclo ecológico de la enfermedad de Chagas está desarrollándose en el medio doméstico, más que en el silvestre.

A pesar de que no se han realizado análisis para detectar *Leishmania* en ninguno de los mamíferos colectados, se encontraron lesiones dérmicas en un murciélago de la especie *Carollia sowelli* similares a las causadas por el parásito *Leishmania*, lo que hace pensar que se está realizando una interacción entre flebótomos, murciélagos y *Leishmania*. Por lo tanto, podemos esperar en los análisis que restan por realizarse de los tejidos de mamíferos y ratones que se colectaron, la presencia de más individuos positivos para *Leishmania spp.* ya que en particular, los murciélagos y ratones desempeñan un papel ecológico muy importante como reservorios de patógenos (de Luis *et al.* 2013; Quan *et al.* 2013).

## **8.2 Vectores**

Por otra parte, en el caso de los triatomíneos el hecho de que la especie que más se registró haya sido *Triatoma dimidiata*, puede deberse a la afinidad que presenta a habitar en sitios del peri e intra domicilio, en donde la mayoría fueron colectadas (Ramsey *et al.* 2005). En el caso de *Panstrongylus rufotuberculatus* en algunas regiones de América se ha reportado también su peri e intra domiciliación, posiblemente en nuestro sitio de estudio se presente el mismo caso, ya que todos los individuos de *P. rufotuberculatus* fueron colectados en los alrededores de la Estación, e inclusive, un individuo, se colectó dentro de una habitación, esto puede ser debido a la presencia constante de seres humanos y a la cercanía de los

edificios con áreas silvestres , al parecer estos triatominos pueden estar buscando sitios de refugio y en la sangre de los humanos que habitan en ella, alimento. Sin embargo, para confirmar la intra domiciliación de *P. rufotuberculatus* sería necesario registrar el ciclo biológico completo de desarrollo de esta especie dentro del domicilio y/o habitaciones, desde huevos, pasando por todos sus estadios ninfales, hasta adultos. Así que, hacen falta más estudios para poder confirmar esto (Wolff y Castillo 2002; Marín *et al.* 2007). Por otra parte, los meses en los que se colectaron más individuos fueron entre marzo y mayo, esto puede deberse a que es la temporada de “secas” en la zona de estudio, época en la cual los triatominos salen de sus refugios en busca de alimento (Guzmán-Marín *et al.* 1994; Dumontiel *et al.* 2002). Además, puede estar influyendo en el desarrollo del ciclo ecológico de la enfermedad de Chagas en la zona, la presencia de infantes en el poblado y personas de la tercera edad, que pueden ser más vulnerables al contagio vectorial de *T. cruzi* (Wincker *et al.* 1997).

Por otra parte, la jurisdicción sanitaria de San Andrés Tuxtla en un estudio realizado, fue la que mostró una presencia (colonización) del 100% en las viviendas por *T. dimidiata*, siendo la jurisdicción con el índice más alto de colonización de todo el estado de Veracruz (Salazar *et al.* 2007).

Por otra parte, la alta tasa de deforestación, fragmentación y perturbación ocasionada por actividades antropogénicas que por décadas ha sufrido la región de Los Tuxtlas, además de los materiales de las viviendas y el estrato social son también otros aspectos que pueden estar influyendo en la presencia y abundancia de los triatominos, y a su vez, en la transmisión de la infección de *T. cruzi* al ser humano (Dirzo 1991; Ramsey *et al.* 2005). Los materiales como adobe, palma,

madera, lámina y piso de tierra de los que están construidas las viviendas influyen en la proliferación de los triatominos, debido a que estos materiales les brindan sitios donde pueden desarrollar su ciclo biológico, como reproducción y refugio (Saunders *et al.* 2012).

Esto es otro factor más para considerar la posible peri e intra domiciliación de las chinches, ya que al poder obtener de manera más sencilla los recursos (alimentación) condiciones (refugio y sitios de anidación) necesarias para desarrollar su ciclo biológico coexistiendo simpátricamente con el ser humano han soslayado a su fuente de alimentación original, que es la sangre de mamíferos silvestres, así como el hábitat selvático donde pueden tener depredadores como *Didelphis marsupialis* y ácaros ectoparásitos de la familia Pterygosomatidae, que se alimentan de su hemolinfa (Calderón-Arguedas 1998). Por lo tanto, al habitar en los asentamientos humanos o cerca de ellos, su éxito biológico aumenta y se facilita (Guhl *et al.* 2007).

En el caso de los flebótomos, la elevada tasa de humedad en el ambiente favorece la abundancia de lutzomyias en las regiones tropicales (Chaniotis *et al.* 1974) .De acuerdo con esto, en otras regiones tropicales de América se ha reportado, que es en la temporada de lluvias cuando *Leishmania* tiene más posibilidad de presentarse en la población humana, debido a que es también en esta periodo, cuando se presenta la mayor abundancia de los flebótomos vectores del parásito (Gutierrez- Oliveira *et al.* 2008).

El hecho de que falten la mayoría de los análisis moleculares para detectar *Leishmania spp.* tanto en los mamíferos como en las lutzomyias colectadas, más que un aspecto limitante, nos hace pensar en el potencial de este estudio, ya que

si consideramos los análisis efectuados hasta el momento, nos indica la alta tasa de prevalencia de *Leishmania* en algunas de las especies colectadas, además de que no se habían encontrado *brumptomyias* ni a *Lu. aclydifera* infectadas con *Leishmania*.

Por otra parte, a pesar que no se han reportado casos de la enfermedad en la región, esta situación podría cambiar, debido a la presencia atípica de fenómenos climáticos, como lluvias atemporales, originando las condiciones de humedad necesarias para la reproducción de las lutzomyias, pudiendo presentarse, una elevada abundancia en sus poblaciones, y con esto, originar la emergencia de casos de esta zoonosis, entre la población humana presente en la región de Los Tuxtlas (Ezquerria 1997). Aunque las lutzomyias necesitan para reproducirse como condición óptima, una humedad relativa alta, (Ezquerria 1997). En el presente estudio el pico de abundancia de las lutzomyias se dio en los meses de octubre (2012) y marzo (2013), hecho que coincide con otros estudios realizados en regiones tropicales de México que reportan estos meses como los que presentan mayor abundancia entre las poblaciones de flebótomos (Rebollar-Téllez *et al.* 2005; Sánchez-García *et al.* 2010).

En el caso de los análisis realizados hasta el momento por PCR, para detectar la presencia de *Leishmania spp.* aunque parciales, se puede esperar una alta tasa de infección por *Leishmania spp.* en las lutzomyias que faltan para analizar, esto proyectando los porcentajes de infección.

Además, de cuales especies están desempeñándose como vectores de *Leishmania spp.*, considerando que hasta el momento de las quince especies que se colectaron, seis han sido positivas a *Leishmania*.



Por otra parte, en el caso de las garrapatas, su pico de abundancias se dio en la época de “secas” en la cual se presentan las temperaturas más altas y una humedad relativa elevada, condiciones propicias para que realicen su ciclo de vida y se incremente su supervivencia, ya que las condiciones microclimáticas, una temperatura entre 27 y 39°C y una humedad relativa de 60 a 80 % son las mejores para éstas (Soulsby 1988).

Se registraron roedores infestados con ninfas y adultos de garrapatas. A este respecto, uno de los roedores infectados con *Borrelia spp.* presentó seis garrapatas, por lo cual es de capital importancia la realización de los PCR en estos ácaros para saber si están infectadas con la misma especie de *Borrelia* que el roedor hospedero. Lo relevante es que en los análisis realizados por PCR se encontraron 13 individuos de tres especies (*C. sowellii* (8+), *A. jamaicensis* (4+) y *H. desmarestianus* (1+) positivos para *Borrelia spp.* aunque no fue por *B. burgdorferi*. Por lo tanto, es trascendental determinar la especie de *Borrelia* con la que encontramos infectados a los mamíferos.

Otro aspecto importante es la detección de *Borrelia* en los tejidos de mamíferos analizados, esto refleja lo relevante de esta investigación y de lo importante que es seguir con el estudio de la ecología de la enfermedad de Lyme. *Borrelia spp.* se encontró tanto en corazón como en hígado y en algunos solamente en uno de los dos tejidos. Por lo tanto, es trascendental identificar la especie de *Borrelia* a la cual fueron positivos los tejidos, ya que han sido documentadas hasta el momento, ocho especies de esta bacteria; *B. burgdorferi* sensu stricto (múltiples cepas diferentes), *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. andersoni*, *B. japonica*, *B. lusitaniae*, *B. tanikii* y *B. turdae*. Todas ellas diferentes en aspectos genéticos, biológicos, ciertas

diferencias en la presentación clínica de la enfermedad y además, en su distribución geográfica (Oliver 1996; Wang *et al.* 1997; Le Fleche 1997). Además, es importante realizar los análisis moleculares de las garrapatas capturadas para documentar que especies están desempeñándose como vectores de los parásitos, la abundancia de los mismos, y su prevalencia en cada periodo de muestreo, para conocer la dinámica ecológica de los vectores de *Borrelia*.

Identificar a los reservorios y vectores de patógenos de las zoonosis es clave para el control de las enfermedades emergentes infecciosas, ya que actualmente no hay un marco para conocer la caracterización del papel que estén desempeñando las especies de murciélagos, ratones así como de las lutzomyias, triatominos y garrapatas en el ciclo ecológico de estas zoonosis. Por lo tanto, es necesaria una propuesta para entender cómo es que están interactuando las comunidades de reservorios y patógenos (McGill *et al.* 2006). Además, es necesario determinar a los reservorios y vectores de estos patógenos, para predecir y prevenir estas zoonosis (Quan *et al.* 2013).

Los resultados obtenidos hasta el momento, aportan información acerca de la dinámica ecológica de las tres zoonosis estudiadas, ya que se encontró evidencia para incriminar a varias especies de mamíferos como reservorios de *Borrelia spp.* (todavía no confirmada como patógena), así como a los flebótomos y triatominos colectados como vectores de *Leishmania* y *T. cruzi* respectivamente. Sin embargo, se necesita realizar los análisis por PCR de los tejidos de los mamíferos colectados, así como de todas las garrapatas, triatominos y lutzomyias, para conocer que especies de mamíferos están desempeñándose como reservorios de *T. cruzi*, *Leishmania spp.* y *B. burgdorferi*, así como las especies de artrópodos

que están cumpliendo el papel de vectores de los respectivos parásitos en la región de Los Tuxtlas.

Con las colectas realizadas y posteriores análisis moleculares esperamos incriminar nuevas especies de lutzomyias como vectores de *Leishmania*, debido a la alta tasa de captura de especies como *L. aclydifera* y sobre todo a que varios individuos de esta especie resultaron positivos para *Leishmania spp.* por lo tanto podría ser una nueva especie de *Lutzomyia* que se estaría incriminando como vector del parásito *Leishmania*.

En el caso de las garrapatas se esperaría detectar *B. burgdorferi* y/u otra especie de *Borrelia* debido a que las especies colectadas están emparentadas con especies de Ixodidae que se han confirmado como vectores de esta bacteria. Para los triatominos que se colectaron al realizar el análisis de detección del parásito de todas las chinches colectadas se registraría el porcentaje de prevalencia de *T. cruzi* en triatomas de la región de Los Tuxtlas. Para el caso de los mamíferos se podría confirmar si están cumpliendo el papel de reservorios de uno dos o los tres parásitos, esto sería fundamental ya que para conocer la posible infección en la población humana es fundamental conocer que especies de mamíferos son reservorios de patógenos nocivos al ser humano, además de su distribución y ecología.

## 9. CONCLUSIONES

En la Estación y zonas aledañas se encuentran los agentes causales de la enfermedad de Chagas, Leishmaniosis y de la enfermedad de Lyme. En el caso de la enfermedad de Lyme se registró por primera vez la presencia de *Borrelia spp.* en dos especies de murciélagos y una de roedor. Es importante identificar la especie de *Borrelia* detectada en algunos mamíferos, para documentar si es una de las tres especies patógenas del género *Borrelia*, alguna de las otras seis especies no patógenas o una nueva especie. Además, se debe de continuar con el análisis de todos los tejidos colectados, para documentar más individuos infectados con la misma especie de *Borrelia spp.* o posiblemente, *B. burgdorferi*.

En el caso de la enfermedad de Chagas se corroboró que *T. dimidiata* está infectada con *Trypanosoma cruzi*. Debido a los resultados obtenidos, se considera que es muy probable que el ciclo ecológico de la enfermedad de Chagas se esté desarrollando en mayor medida en el intra y peri domicilio, debido a que en estas áreas se reúnen todos los factores biológicos de reservorios y vectores, así como los abióticos; refugio, humedad, luz y zonas de reproducción dentro de las viviendas, potreros y en la vegetación en descomposición que se encuentra en los alrededores de las viviendas como leños y troncos que se utilizan como leña.

En el ciclo ecológico de la Leishmaniosis se registró a seis especies infectadas con *Leishmania spp.* (*Lu. aclydifera*, *Lu. deleoni*, *Lu. shannoni*, *Lu. carpenteri*, *Lu. cruciata* y *Brumptomyia hamata/mesai*). Sin embargo, se deben de analizar todas las hembras colectadas para saber que especies de estos flebótomos pueden estarse desempeñando como vectores del mismo parásito, así como la prevalencia del parásito en cada una de las especies que resulten positivas.

El hecho de que se hayan registrado especies de flebótomos infectados, nos indica que se están alimentando de sangre de vertebrados.

Nuestro estudio sugiere que la interacción parásito-reservorio-vector para las tres enfermedades se está llevando a cabo. Sin embargo, es necesario realizar el análisis molecular de todos los tejidos de mamíferos y artrópodos colectados, para documentar que especies están desempeñándose como reservorios y vectores de *T. cruzi*, *Leishmania spp.* y *B. burgdorferi*.

## **10. ANEXOS**

### **Montaje de flebótomos**

Se siguieron los siguientes pasos:

1. Se transfirieron del etanol a una solución de detergente líquido en agua al 5% de 2-4 h. para que la cutícula se hidrate, se limpie y se suavicen los tejidos blandos del cuerpo (foto 12 y 13; cortesía de C. Cañeda).
2. Se lavó con agua destilada durante 15 minutos.
3. Posteriormente se pasó al hidróxido de sodio (NaOH al 10%) a temperatura ambiente, con el fin de eliminar los tejidos blandos del individuo (maceración), al menos durante 12 horas, se revisó continuamente para determinar el grado de destrucción de los tejidos blandos y el grado de transparencia del tegumento, ya que entre más grandes sean los organismos y más tiempo hayan estado preservados en etanol, será más difícil la maceración.
4. De nueva cuenta se lavó abundantemente en agua bidestilada para eliminar la sosa y mantenerlos por espacio de 20 a 30 minutos.

5. Después se deshidrató en alcoholes graduales al 60%, 70%, 80%, 90%, 96% y 100%, por espacio de 10 minutos en cada uno de ellos. En el etanol absoluto debe mantenerse transparente en caso contrario el alcohol se ha hidratado con la humedad relativa atmosférica, y en este caso habría que calcular el tiempo que requieren dejarse en esta solución sin que exista trazas de agua, pues ésta afecta la calidad del montaje.

6. Se diafanizó en esencia de clavo puro al menos 15 min. Las lutzomyias deben de permanecer en esencia de clavo hasta notar que la superficie del cuerpo ha perdido la brillantez (como espejo) de su superficie y las trazas de tejido macerado (blanquecinas) se condensan y dejan de ser evidentes. El material puede permanecer en esencia de clavo por varios días sin que se deteriore.

7. Posteriormente se montó en euparal por inversión, esto para evitar que se muevan las estructuras del ejemplar: sobre un portaobjetos limpio, se coloca una gota diminuta de agua bidestilada en el centro, sobre la cual se coloca un cubreobjetos pequeño (de tamaño justo para cubrir el organismo; normalmente un cubreobjetos de 18 mm cortado en cuatro partes es recomendable). El agua bidestilada sujetará el cubreobjetos al portaobjetos por tensión superficial con la finalidad de que no se mueva y sea factible disecar el ejemplar encima del cubreobjetos.

8. Sobre el cubreobjetos se distribuyó sobre su superficie sin alcanzar los bordes una pequeña cantidad de euparal (puede usarse bálsamo de Canadá, pero su

índice de difracción es mayor y con el tiempo tiende a oscurecerse dificultando la observación de los ejemplares).

9. Se transfirió al euparal el ejemplar, con el fin de que se disecara bajo el microscopio estereoscópico para separar la cabeza y colocarla con la parte posterior hacia el cubreobjetos, las alas desde su base y extenderlas perfectamente, colocar el tórax en posición lateral con las patas extendidas y separar el abdomen y colocarlo en posición ventral hacia el cubreobjetos en las hembras y dorsal hacia el cubreobjetos en los machos, cuidando que las piezas no se deformen, ni pierdan la orientación y extendiendo los gonopodios y cercopodios de los machos. Es indispensable que el complejo edeagal quede en posición horizontal.

10. Las preparaciones se dejaron secar en una platina caliente o en una estufa con termostato a una temperatura de 40° C por al menos 24 horas, antes de continuar con el procedimiento.

11. Se desprendió el cubreobjetos del portaobjetos y al centro de este último se colocó una gota de euparal justo al centro del portaobjetos. Sobre esta gota se colocó el cubreobjetos invirtiéndolo, de tal forma que el ejemplar ya disecado quedara entre los dos vidrios.

12. Se dejó secar al menos 24 horas a 40° C, posteriormente se etiquetó con los datos de campo al lado izquierdo.

13. Por último, se procedieron a identificar todos los especímenes basándose en la guía de identificación de Ibáñez-Bernal (2005) y Young y Duncan (1994). Y con la asesoría de Dr. Eduardo Rebollar Téllez (UANL).

14. La etiqueta con los datos taxonómicos se colocó en el lado derecho del portaobjetos, la localidad de colecta, georreferencia y los datos del colector del lado izquierdo (foto 14; cortesía de C. Cañeda Guzmán).

\* Un punto muy importante a tomar en cuenta, es que la técnica debe ajustarse considerando la altitud, época del año, temperatura del laboratorio y humedad relativa ambiental.

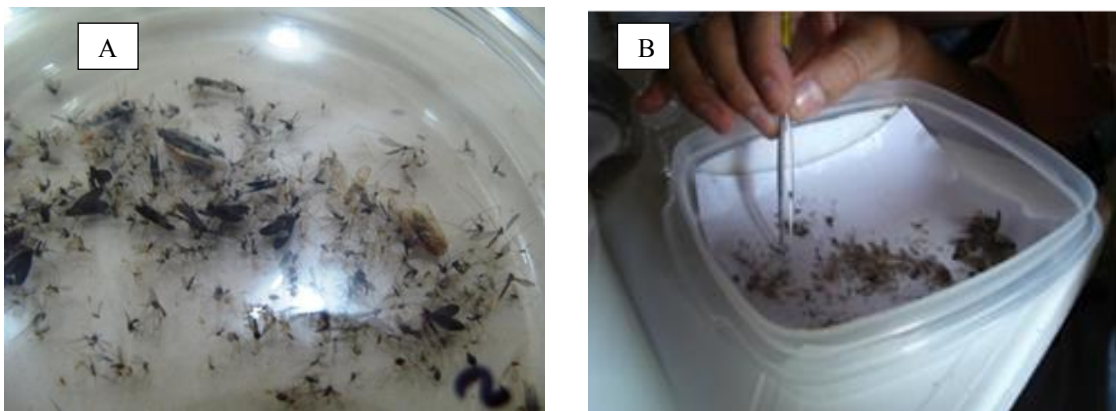


Foto 12. A) Separación de flebótomos; B) separación de flebótomos

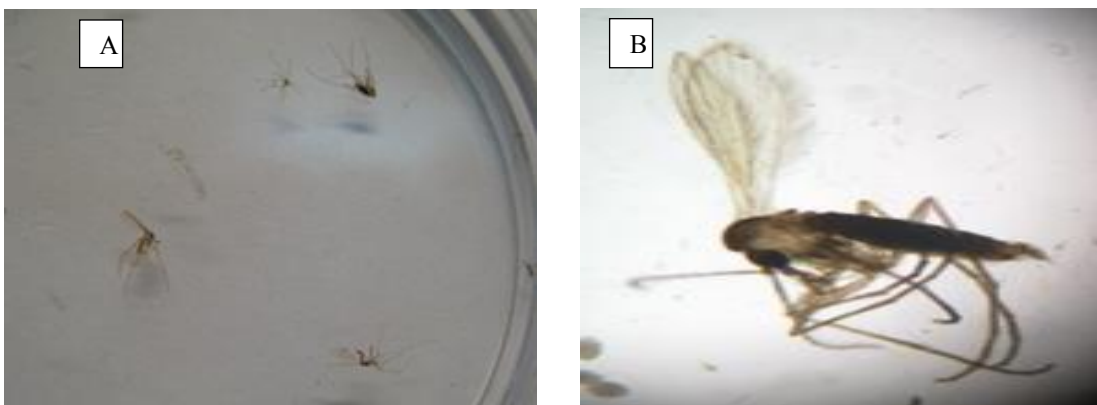


Foto 13. A) Flebótomos separados; B) *Lutzomyia* spp.





Foto 14. Etiqueta con datos taxonómicos, localidad de colecta, georreferencia, colector y montaje del ejemplar (Cortesía de C. Cañeda)

## 11. LITERATURA CITADA

Aguirre PE. 1947. Presencia de *Trypanosoma cruzi* en mamíferos y triatomídeos de Monterrey Nuevo León, México. *Archivo Médico de México* 5: 350-358.

Alam M and Hammerschlag MR. 2004. SARS and emerging zoonoses. *Infections in Medicine* 21: 327–332.

Allan BF, Keesing F and Ostfeld RS. 2003. Effect of forest fragmentation on Lyme disease risk. *Conservation Biology* 17: 267-272.

Alarcon B, Diaz-Bello Z, Colmenares C, Ruiz-Guevara R, Mauriello L, Zavala-Jaspe R and Noya O. 2010. Large urban outbreak of orally acquired acute Chagas disease at a school in Caracas, Venezuela. *Journal of Infected Diseases* 201: 1308–1315.

Apt W, Heitmann I, Jercic M, Jofré L, Muñoz P, Hauck I, San Martín A, Sapunar J, Torres M and Zulantay I. 2008. *Guías clínicas sobre la enfermedad de Chagas: Parte I. Introducción y epidemiología*. *Revista Chilena de Infectología* 25: 189-193.

Arroyave MC y Támez GR. 1994. Enfermedad de Lyme, informe de dos casos. *Boletín Médico Hospital Infantil de México* 51:117-121.

Ashford RW. 2000. The Leishmaniases as emerging and reemerging zoonoses. *International Journal of Parasitology* 30: 1269-1281.

Ávila-Cabadilla LD, Stoner KE, Nassar JM, Espírito-Santo MM, Alvarez-Añorve MY, Mickael H, González-Carcacia JA, Dolabela Falcão LA and Sanchez-Azofeifa GA. 2014. Phyllostomid bat occurrence in successional stages of Neotropical dry forests. *PLoS ONE* 9(1): e84572.

Barbour AG and Fish D. 1993. The biological and social phenomenon of Lyme disease. *Science* 260:1610-1616.

Barbour AG, Maupin GO, Teltow GJ, Carter CJ and Piesman J. 1996. Identification of an uncultivable *Borrelia* species in hard tick *Amblyomma americanum*: possible agent of Lyme disease-like illness. *Journal of Infectious Disease* 173:403-9.

Barbu CM, Hong A, Manne JM, Small DS, Calderón JEQ, Sethuraman K and Levy MZ. 2013. The effects of city streets on an urban disease vector. *PLoS computational biology* 9(1), e1002801.

Barcellos C, Monteiro AMV, Corvalán C, Gurgel HC, Carvalho MS, Artaxo P, Hacon S and Ragoni V. 2009. Mudanças climáticas e ambientais e as doenças infecciosas: cenários e incertezas para o Brasil. *Epidemiol. Serv. Saúde* 18: 285-304.

Beltrán E. 1949. Hallazgo de *Schizotrypanum cruzi* en una rata (*Rattus norvegicus*) de la ciudad de México. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* 10: 15-18.

Beltrao B, Cerroni P, Freitas DR, Pinto AY, Valente C and Sobel J. 2009. Investigation of two outbreaks of suspected oral transmission of acute Chagas disease in the Amazon region, Para State, Brazil, in 2007. *Tropical Doctor* 39: 231–232.

Bern C, Kjos S, Yabsley MJ and Montgomery SP. 2011. *Trypanosoma cruzi* and Chagas disease in the United States. *Clinical Microbiology Reviews* 24: 655–681.

Berzunza-Cruz M, Bricaire G, Suazo NS, Pérez-Montfort R and Becker I. 2009. PCR for identification of species causing American cutaneous leishmaniasis. *Parasitology Research* 104: 691-699.

Bergallo HG and Magnusson WE. 1999. Effects of climate and food availability on four rodent species in southeastern Brazil. *Journal of Mammalogy* 80: 472-486.

Biagi FF, de Biagi AM and Beltrán HF. 1965. *Phlebotomus flaviscutellatus*, transmisor natural de *Leishmania mexicana*. *Prensa Médica Mexicana* 30: 267-270.

Boonstra R and Craine IT. 1985. Natal nest location and small mammal tracking with a spool and line technique. *Canadian Journal of Zoology* 64:1034–1036.

Bown KJ, Begon M, Bennett M, Woldehiwet Z and Ogden NH. 2003. Seasonal dynamics of *Anaplasma phagocytophila* in a rodent-tick (*Ixodes trianguliceps*) system, United Kingdom. *Emerging Infectious Diseases* 9: 63–70.

Burleigh BA and Andrews NW 1995. The mechanisms of *Trypanosoma cruzi* invasion of mammalian cells. *Annual Review of Microbiology* 49:175–200.

Cabrera OL, Munsterman LE, Cárdenas R, Gutiérrez R y Ferro C. 2002. Definición de las condiciones de temperatura y almacenamiento adecuadas en la detección de ADN de *Leishmania* por PCR en flebotominos. *Biomédica* 22: 296-302.

Calderón-Arguedas O. 1998. Distribucion topografica de *Pimeliaphilus zeledoni* (acari: pterygosomatidae) en su hospedador *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) (Hemiptera: Reduviidae). *Parasitología al Día* 22: 85-89.

Canto-Lara SB, Van Wynsberghe NR, Vargas-Gonzalez A, Ojeda-Farfán FF and Andrade-Narvaez FJ. 1999. Use of monoclonal antibodies for the identification of *Leishmania spp.* isolated from humans and wild rodents in the State of Campeche, Mexico. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 94:305-9.

- Carcavallo R, Galíndez-Girón J, Jurberg J, Galvão C and Lent H. 1999. Geographical distribution and alti-latitudinal dispersion. In: Carcavallo R, Galíndez-Girón J, Jurberg J and Lent H. (Eds). *Atlas of Chagas disease vectors in the Americas*. Fiocruz, Rio de Janeiro 3: 747-792.
- Castillo-Campos G. y Laborde J. 2004. La Vegetación. En: Guevara S, Laborde J y Sánchez G. (Eds). *Los Tuxtlas el Paisaje de la Sierra*. Instituto de Ecología A.C. y Unión Europea Xalapa, Ver. Pp: 242-243.
- Ceballos G. y Oliva G. (Eds.) 2005. *Los mamíferos silvestres de México*. Fondo de Cultura Económica y CONABIO, México, D. F. 986 pp.
- Center for Disease Control (CDC). 2008. *Parasitic disease information: fact sheet on Leishmania infection*.
- Centers for Disease Control and Prevention. 1998. *Summary of notifiable diseases, United States, Morbidity and Mortality Weekly Report 46:23*.
- Chagas C. Uber eine neue trypanosomiasis des menschen. 1909. *Archiv fur Schiffs - und Tropen-Hygiene* 13: 351-353.
- Chagas C. 1924. Sobre a verificação do “*Trypanosoma cruzi*” em macacos do Pará (*Chrysothrix sciureus*). *Sci. Méd* 2:75–76.

Chagas C. 1912. Sobre um trypanosomo do tatú, *Tatusia novemcincta*, transmittido pela *Triatoma geniculata* Latr. (1811). Possibilidade de ser o tatú um depositario do *Trypanosoma cruzi* no mundo exterior *Brasil Médico* 1: 305–306.

Chaniotis BN, Correa MA, Tesh RB and Johnson KM. 1974. Horizontal and vertical movements of phlebotominc sandflies in a Panamanian rain forest. *Journal of Medical Entomology* 11:365— 369

Coates-Estrada R y Estrada A. 1986. *Manual de identificación de campo de los mamíferos de la Estación de Biología “Los Tuxtlas”*. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria México, D.F. 151 pp.

Colazo R y Castro J. 1997. Los roedores dañinos: Algunos aspectos del control químico y bacteriológico. *Rev. Inv. Pec. IVITA* 8: 1-9.

Cooley RA and Kohls GM. 1944. The genus *Amblyomma* (Ixodidae) in the United States. *Journal of Parasitology* 30: 77–111.

Coura JR, Abreu LL, Pereira JB and Willcox HP. 1985. Morbidade da doença de Chagas. IV. Estudo longitudinal de dez anos em Pains e Iguatama Minas Gerais, Brasil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 80: 73-80.

Coura JR, Anunziato N and Willcox HP. 1983. Morbidade da doença de Chagas. I. Estudo de casos procedentes de varios estados do Brasil, observados no Rio de Janeiro. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 78: 363-372.

Coura JR, Junqueira AC, Fernandes O, Valente SA and Miles MA. 2002. Emerging Chagas disease in Amazonian Brasil. *Trends in Parasitology* 18: 171-176.

Christensen H, Fairchild GB, Herrer A, Johnson C, Young D and de Vásquez A. 1983. The ecology of cutaneous, leishmaniasis in the Republic of Panama. *Journal of Medical Entomology* 20: 463-484.

Cruz-Reyes A and Pickering-López JM. 2006. Chagas disease in Mexico: an analysis of geographical distribution during the past 76 years-A review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 101:345-354.

Daszak P, Cunningham AA and Hyatt AD. 2001. Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. *Acta Tropica* 78:103-116.

Daszak P, Epstein JH, Kilpatrick AM, Aguirre AA, Karesh WB and Cunningham AA. 2007. Collaborative research approaches to the role of wildlife in zoonotic disease emergence. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 315:463–75.



Dedet JP. 1993. *Leishmania* et leishmanioses du continent américain. *Annales Instituto Pasteur* 4: 3-25.

de Luis AD, Hayman DT, O'Shea TJ, Cryan PM, Gilbert AT, Pulliam JR and Webb C T. 2013. A comparison of bats and rodents as reservoirs of zoonotic viruses: are bats special? *Proceedings of the Royal Society B: Biol. Sci.* 280 doi: 10.1098/rspb.2012.2753.

Dirzo R. 1991. Rescate y restauración ecológica de la selva de Los Tuxtlas. *Ciencia y Desarrollo* 17: 33-46.

Disney RH. 1968. Observations on a zoonosis: Leishmaniasis in British Honduras. *Journal of Applied Ecology* 5:1-59.

Domínguez A y Espinoza E. 1988. Estudio de reservorios silvestres de *Trypanosoma cruzi* en el Estado de Oaxaca, México. *Boletín Chileno Parasitológico* 43: 64-65.

Duckhouse DA. 1973. *Family Psychodidae, subfamilies Bruchomyiinae, Trichomyiinae, Sycoracinae and Psychodinae*. In: *A catalog of the Diptera of the Americas South of the United States*. Papavero N. (Ed.). Museu de Zoologia Sao Paulo, Brasil. 6a: 1–29.

Dujardin JP and Schofield JC. 2004. Triatominae: systematics, morphology and population biology. In: *The Trypanosomiases*. Maudlin I, Holmes PH, Miles MA, (Eds.). CAB International Wallingford, UK pp. 181–201.

Dumonteil E y Gourbière S. 2004. Predicción de la abundancia y tasa de infección de *Triatoma dimidiata*: un mapa de riesgo de transmisión natural de la enfermedad de Chagas en la Península de Yucatán, México. *Revista Biomédica* 15: 221-231.

Dumonteil E, Gourbiere S, Barrera-Pérez M, Rodríguez- Félix E, Ruiz-Piña H, Baños-López O. 2002. Geographic distribution of *Triatoma dimidiata* and transmission dynamic of *Trypanosoma cruzi* in the Yucatan Peninsula of Mexico. *American Journal of Tropical Medicine and Higiene* 67: 176.

Dumonteil E, Nouvellet P, Rosecrans K, Ramirez-Sierra MJ, Gamboa-León R, Cruz-Chan V and Gourbière S. 2013. Eco-bio-social determinants for house infestation by non-domiciliated *Triatoma dimidiata* in the Yucatan Peninsula, Mexico. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 7:9 e2466.

Duthie MS, Kahn M, White M, Kapur RP and Kahn SJ. 2005. Critical proinflammatory and anti-inflammatory functions of different subsets of CD1d-restricted natural killer T cells during *Trypanosoma cruzi* infection. *Infection and Immunity* 73:181-192.

Enger KS, Ordonez R, Wilson ML and Ramsey JM. 2004. Evaluation of risk factors for rural infestation by *Triatoma pallidipennis* (Hemiptera: Triatominae), a Mexican vector of Chagas disease. *Journal of Medical Entomology* 41: 760–767.

Estrada-Franco JG, Bhatia V, Diaz-Albiter H, Ochoa-Garcia L, Barbabosa A, Vazquez-Chagoyan JC and Garg N. 2006. Human *Trypanosoma cruzi* infection and seropositivity in dogs, Mexico. *Emerging Infectious Disease*. 12:624–630.

Estrada-Peña A, Guglielmone AA and Mandgold AJ. 2004. The distribution and ecological preferences of the tick *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae), an ectoparasite of humans and other mammals in the Americas. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 98: 283–292.

Espinoza B, Martínez-Ibarra JA, Villalobos G, de la Torre P, Lacleite JP and Martínez F. 2013. Genetic variation of North American Triatomines (Insecta: Hemiptera: Reduviidae): Initial divergence between species and populations of Chagas disease vectors. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 88: 275–284

Ezenwa VO, Godsey MS, King RJ and Guptill SC. 2006. Avian diversity and West Nile virus: testing associations between biodiversity and infectious disease risk. *Proceedings of Royal Society B-Biol. Sci.* 273: 109–117.

Ezquerro JPA. 1997. *La Leishmaniasis: de la biología al control*. Junta de Castilla y León. 200 pp.

*Food and Agriculture Organization*. 2004.

Galati EAB. 1995. Phylogenetic systematics of Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) with emphasis on American groups. *Boletín Dir Malariol San Amb* 35: 133-142.

Galaviz-Silva L y Arredondo-Cantú JM. 1992. Primer reporte de *Neotoma micropus* (Rodentia) como reservorio de *Trypanosoma cruzi* en México. *Boletín Chileno Parasitológico* 47: 54-57.

Gardner AL. 1977. Feedings habits. In: *Biology of bats of the New World family Phyllostomyidae Part II*. Baker RJ, Carter DC and Jones JK (Eds.). *Spec. Publ. Mus., Texas. Tech. Univ.* 13: 1-364.

Gaunt M and Miles M. 2000. The ecotopes and evolution of triatomine bugs (Triatominae) and their associated trypanosomes. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 95: 557-565.

Gallegos M. 2004. Zoonosis emergentes por patógenos parásitos: las leishmaniosis. *Rev. Sci. Tech.* 23: 661-676.

González C, Munstermann LE, Cabrera OL y Ferro C. 2006. Patrones de distribución geográfica de los vectores de Leishmaniasis visceral en Colombia. *Biomédica* 26: 64-72.

González C, Rebollar-Téllez EA, Ibáñez-Bernal S, Becker-Fausser I, Martínez-Meyer E, Peterson AT and Sánchez-Cordero V. 2011. Current knowledge of Leishmania vectors in México: How geographic distributions of species relate to transmission areas. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 85:839-846.

González C, Cabrera O, Munstermann L y Ferro C. 2006. Distribución de los vectores de *Leishmania infantum* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) en Colombia. *Biomédica* 26: 64-72.

González RC. 2010. “*Leishmaniosis en México; un análisis eco-epidemiológico y clínico de focos con alta incidencia de transmisión*” Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México.

González C, Wang O, Strutz SE, González-Salazar C, Sánchez-Cordero V and Sarkar S. 2010. Climate change and risk of Leishmaniasis in North America: predictions from ecological niche models of vector and reservoir species. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 4(1), e585.

Gordillo -Pérez MG, Torres J, Solorzano F and Cedillo-Rivera R. 1999. Serologic evidences suggesting the presence of *Borrelia burgdorferi* infection in Mexico. *Archives of Medical Research* 30:64-8.

Gordillo-Pérez MG. 2007. *Caracterización molecular de Borrelia burgdorferi adquirida en la República Mexicana y de la respuesta inmune a antígenos de diferentes especies de Borrelia en pacientes con Borreliosis de Lyme*. Tesis Doctoral.

Gordillo-Pérez MG, Bautista V, Solórzano S, Tapia-Conyer R, Muñoz O, y Torres J. 2003. Estudio seroepidemiológico de Borreliosis de Lyme en la ciudad de México y el Noreste de la República Mexicana. *Salud Pública de México* 45:351-355.

Gramiccia M and Gradoni L. 2005. The current status of zoonotic Leishmaniasis and approaches to disease control. *International Journal of Parasitology* 35: 1169–1180.

Guglielmone AA, Venzal JM, González-Acuña D, Nava S, Hinojosa A and Mangold AJ. 2006. The phylogenetic position of *Ixodes stilesi* Neumann, 1911 (Acari: Ixodidae): morphological and preliminary molecular evidences from 16S rDNA sequences. *Systematic Parasitology* 65: 1–11.

Guhl F, Aguilera G, Pinto N y Vergara D. 2007. Actualización de la distribución geográfica y ecoepidemiología de la fauna de triatominos (Reduviidae: Triatominae) en Colombia. *Biomédica* 27:143-162.

Gurtler RE, Chuit R, Cecere MC, Castanera MB, Cohen E and Segura- Household EL. 1998. Prevalence of seropositivity for *Trypanosoma cruzi* in three rural villages in northwest Argentina: environmental, demographic, and entomologic associations. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 59:741–749.

Gutierrez-Oliveira A, Bianchi-Galati EA, Fernandes CE, Cavalheiros-Dorval ME and Pecanha Brazil R. 2008. Seasonal variation of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in endemic area of visceral leishmaniasis, Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Acta Tropica* 105: 55–61.

Guzmán-Bracho C. 1985. *Enfermedad de Chagas en Progreso, Jiutepec, Mor. I. Encuesta Seroepidemiológica*. Tesis de Especialidad. Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, Secretaria de Salud. México, 46 pp.

Guzmán-Cornejo C and Robbins RG. 2010. The genus *Ixodes* (Acari: Ixodidae) in Mexico: adult identification keys, diagnoses, hosts and distribution. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 81: 289–298.

Guzmán-Cornejo C, Robbins RG, Guglielmone AA, Montiel-Parra G and Pérez T M. 2011. The *Amblyomma* (Acari: Ixodida: Ixodidae) of Mexico: identification keys, distribution and hosts. *Zootaxa* 2998: 16-38.

Guzmán-Cornejo C, Pérez TM, Nava S y Guglielmone AA. 2006. Primeros registros de las garrapatas *Amblyomma calcaratum* y *A. pacae* (Acari: Ixodidae) parasitando mamíferos de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 77:123-127.

Guzmán-Marín ES, Barrera-Pérez MA, Rodríguez-Félix ME, García-Rejón JE. 1994. La temperatura como factor de diferenciación de *Trypanosoma cruzi* en *Triatoma dimidiata*. *Revista Biomédica* 5: 33.

Guzmán-Marín E, Barrera MA, Rodríguez ME, Escobedo F y Zavala JE. 1991. Índices entomológicos de *Triatoma dimidiata* en el estado de Yucatán. *Revista Biomédica* 2:20-29.

Hamilton DR. 1998. Lyme disease. The hidden pandemic. *Postgrad Med* 85:303-8.

Hernández JL, Rebollar-Téllez EA, Infante F, Morón A y Castillo A. 2010. Indicadores de infestación, colonización e infección de *Triatoma dimidiata* (Latreille) (Hemiptera: Reduviidae) en Campeche, México. *Neotropical Entomology*



- Herrera L. 2010. Una revisión sobre reservorios de *Trypanosoma* (Schizotrypanum) *cruzi* (Chagas, 1909), agente etiológico de la enfermedad de Chagas. *Boletín Malariológico de Salud Ambiental* 50: 3-15.
- Hoffmann A. 1962. Monografía de los Ixodoidea de México. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* XXIII: 197-282.
- Hoffmann CC. 1928. Nota acerca de un probable transmisor de la tripanosomiasis humana en el estado de Veracruz. *Revista Mexicana de Biología* 8:12-8.
- Hotez PJ. 2014. Ten Global “Hotspots” for Neglected Tropical Diseases. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 8: e2496.
- Hughes VL and Randolph SE. 2001. Testosterone depresses innate and acquired resistance to ticks in natural rodent hosts: a force for aggregated distributions of parasites. *Journal of Parasitology* 87: 49–54.
- Ibáñez-Bernal S. 2000. *Los phlebotominae (diptera. psychodidae) de Mexico*. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias, UNAM. Pp 291.
- Ibáñez-Bernal S. 2005. Plebotominae (Diptera: Psychodidae) de México VI. Clave ilustrada para la identificación de las hembras de *Lutzomyia franca*. *Folia Entomológica Mexicana* 44: 195-212.

Ibáñez-Bernal S, Hernández-Xoliotl RA and Mendoza F. 2006. Collections of Bruchomyiinae and Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) from the north-central portion of the State of Veracruz, Mexico, with the description of a new species. *Zootaxa* 1270: 19–33.

Ibarra-Cerdeña CN, Sánchez-Cordero V, Townsend PA and Ramsey JM. 2009. Ecology of North American Triatominae. *Acta Tropica* 110:178-186.

Jones CG, Ostfeld RS, Richard MP, Schaubert EM and Wolff JO. 1998. Chain reactions linking acorns to gypsy moth outbreaks and Lyme disease risk. *Science* 279: 1023–1026.

Kato H, Uezato H, Katakura K, Calvopiña M, Marco JD, Barroso PA, Gomez EA, Mimori T, Korenaga M, Iwata H, Nonaka S and Hashiguchi Y. 2005. Detection and identification of *Leishmania* species within naturally infected sand flies in the Andean areas of Ecuador by a polymerase chain reaction. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 72:87–93.

Keirans JE, Hutcheson HJ, Durden LA and Klompen JS. 1996. *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae): redescription of all active stages, distribution, hosts, geographical variation and medical and veterinary importance. *Journal Medical Entomology* 33:297-318.

Kerr SF, McHugh CP and Dronen NO. 1995. Leishmaniasis in Texas: prevalence and seasonal transmission of *Leishmania mexicana* in *Neotoma micropus*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 53: 73–77.

Kerr SF, McHugh CP and Merkelz R. 1999. Short report: a focus of *Leishmania mexicana* near Tucson, Arizona. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 61: 378–379.

Kunz TH and Fenton MB. 2003. *Bat ecology*. University of Chicago Press, Chicago, Ill. 779 pp.

Kurtenbach K, Hanincová K, Tsao J, Margos G, Fish D and Ogden NH. 2006. Key processes in the evolutionary ecology of Lyme borreliosis. *Nature Reviews Microbiology* 4: 660–669.

Lainson R, Killick-Kendrick R and Flisser A. 1988. Ecological interactions in the transmission of Leishmaniasis (and discussion). *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 31: 389–404.

Lainson R. 1997. On *Leishmania enriettii* and other enigmatic *Leishmania* species of the neotropics. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 92: 377–387.

Lainson R, Shaw J, Ready PD, Miles M and Póvoa M. 1981. Leishmaniasis in Brazil: XVI. Isolation and identification of *Leishmania* species from sandflies, wild

mammals and man in north Para State, with particular reference to *L. brasiliensis guyanensis* causative agent of “pian-bois”. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 7: 530-6.

Le Fleche A, Postic D, Girardet K, Peter O and Baranton G. 1997. Characterization of *Borrelia lusitaniae* sp.nov. by 16S ribosomal DNA sequence analysis. *International Journal of Systematic Bacteriology* 47: 921-5.

Leishman WB. 1903. On the possibility of occurrence of trypanosomiasis in India. *British Medical Journal* 1:1252–1254.

Lent H and Wygodzinsky P. 1979. Revision of triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vector of Chagas disease. *Bulletin American Museum of Natural History* 163:124-520.

León-Villegas R. 2009. *Monitoreo de la mastofauna terrestre de la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtles” y sitios selectos de la región de Los Tuxtles Veracruz, México*. Tesis de licenciatura, Instituto Tecnológico de Altamira.

Levy M, Bowman N, Kawai V, Waller L and Cornejo del Carpio J. 2006. Periurban *Trypanosoma cruzi*-infected *Triatoma infestans*, Arequipa, Peru. *Emerging Infectious Disease* 12: 1345–1352.

Levi T, Kilpatrick AM, Mangel M and Wilmers CC. 2012. Deer, predators, and the emergence of Lyme disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 109: 10942-10947.

Maradiaga-Ceceña MA, Llausás-Vargas A, Barguera-Heredia J y Kumate-Rodríguez J. 1991. Eritema crónico migratorio asociado a artritis. Enfermedad de Lyme o una variante. *Revista Mexicana de Reumatología* 6:61.

Marín E, Santillán R, Cuba C, Jurberg J and Galvão C. 2007. Hallazgo de *Panstrongylus rufotuberculatus* (Champion, 1899) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) en ambiente domiciliario en la Región Piura, Perú. *Cad. Saúde Pública* 23: 2235-2238.

Martínez A, Salinas A, Martínez F, Cantú A and Miller DK. 1999. Serosurvey for selected disease agents in white-tailed deer from Mexico. *Journal of Wildlife Disease* 35:799-803.

Martínez I, Cervantes-Landín A y Espinoza B. 2013. Diagnóstico molecular de la enfermedad de Chagas. *Gaceta Médica de México* 149: 363-5.

Martínez I, Martínez-Ibarra A, Arce-Fonseca M, Rodríguez-Morales O, Pérez-Morales D, López PAR and Espinoza B. 2014. Seroprevalence and major antigens recognized by sera from *Trypanosoma cruzi*-infected dogs from Jalisco, México. *Revista Argentina de Microbiología* 46: 85-90.

Martínez-Ibarra JA, Galavíz-Silva L, Lara-Campos C y Trujillo-García JC. 1992. Distribución de los triatominos asociados al domicilio humano en el municipio de General Terán, Nuevo León, México. *Southwestern Entomologist* 17:261-265.

Martínez-Ibarra JA, Katthain-Duchateau G and Galaviz- Silva L. 1992. Estudio sobre los hábitos biológicos de *Triatoma pallidipennis* (Stal) bajo condiciones de laboratorio. *Publicaciones Biológicas FCB/UANL* 6: 44-48.

Martínez-Ibarra JA, Magallón-Gastélum E, Rodríguez-López MH, Arredondo-Jiménez JI y Domínguez-Sibaja L. 1998. Breve actualización de la situación de los triatominos (Hemiptera: Reduviidae) vectores de la enfermedad de Chagas en algunas localidades de Chiapas, Jalisco y Nayarit. pp. 337-341. En: *Resúmenes XXXIII Congreso Nacional de Entomología (Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Guerrero, ed.)*. México: Acapulco, Guerrero.

Martins-Melo FR, Alencar CH, Ramos AN and Heukelbach J. 2012. Epidemiology of mortality related to Chagas' disease in Brazil, 1999-2007. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 6: e1508.

Mather TN. 1993. The dynamics of spirochete transmission between ticks and vertebrates In: *Ecology and Environmental Management of Lyme disease*. Gins Rutgers University Press New Brunswick New Jersey, USA. pp: 43-60.

Mast WE and Burrows WM, Jr. 1976. Erythema chronicum migrans in the United States. *Journal of American Medical Association* 236:859–860.

Mazzotti L. 1936. Investigación sobre la existencia de la enfermedad de Chagas en el País. Demostración de los tripanosomas en los reduvídeos transmisores. *Gaceta Médica Mexicana* 282: 584-585.

Mazzotti L. 1940. Dos Casos de Enfermedad de Chagas en el Estado de Oaxaca. *Gaceta Médica de México* 70:417-420.

McGill BJ, Enquist BJ, Weiher E and Westoby M. 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology and Evolution* 21: 178–185.

McHugh CP, Grogil M and Kreutzer RD. 1993. Isolation of *Leishmania mexicana* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) from *Lutzomyia anthophora* (Diptera: Psychodidae) collected in Texas. *Journal of Medical Entomology* 30: 631–633.

McHugh CP, Melby PC and LaFon SG. 1996. Leishmaniasis in Texas: epidemiology and clinical aspects of human cases. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 55: 547–555.

McHugh CP, Thies ML, Melby PC, Yantis LD, Raymond RW, Villegas MD and Kerr SF. 2003. Short report: a disseminated infection of *Leishmania mexicana* in an

eastern wood rat, *Neotoma floridana* collected in Texas. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 69: 470–472.

Miles MA, Feliciangeli MD and Rojas de Arias A. 2003. American Trypanosomiasis (Chagas' disease) and the role of molecular epidemiology in guiding control strategies. *British Medical Journal* 326: 1444–1448.

Miles MA, Souza A and Póvoa M. 1981. Mammal tracking and nest location in Brazilian forest with an improved spool and line device. *Journal of Zoology* 195: 331- 347.

Mills JN and Childs JE. 1998. Ecological studies for rodent reservoirs: their relevance for human health. *Emerging Infectious Diseases* 4: 529-537.

Miranda F y Xolocotzi EH. 1963. Los tipos de vegetación de México y su clasificación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 28: 29-179.

Mota J, Chacon JC, Gutiérrez-Cabrera AE, Sánchez-Cordero V, Wirtz RA, Ordoñez R and Ramsey JM. 2007. Identification of blood meal source and infection with *Trypanosoma cruzi* of Chagas disease vectors using a multiplex cytochrome b polymerase chain reaction assay. *Vector-borne and Zoonotic diseases* 7: 617-628.

Oliver Jr JH. 1996. Lyme borreliosis in the southern united states: A review. *Journal of Parasitology* 82: 926-35.



Ogden NH, Bigras-Poulin M, Hanincová K, Maarouf A, O'Callaghan CJ and Kurtenbach K. 2008. Projected effects of climate change on tick phenology and fitness of pathogens transmitted by the North American tick *Ixodes scapularis*. *Journal of Theoretical Biology* 254: 621-632.

Organización Mundial de la Salud. 2010. Serie de Informes Técnicos 949. *Control de las Leishmaniasis. Informe de una reunión del Comité de Expertos de la OMS sobre el Control de las Leishmaniasis*.

OPS. 2006. *Consulta de expertos OPS/OMS sobre Leishmaniasis visceral en las Américas*. Informe final. Ministerio de Salud de Brasil. Brasilia, Brasil.

Ostfeld RS and Keesing F. 2000. Biodiversity and disease risk: the case of Lyme disease. *Conservation Biology* 14: 722–728.

Ostfeld R and Keesing F. 2000. The function of biodiversity in the ecology of vector-borne zoonotic diseases. *Canadian Journal of Zoology* 78: 2061–2078.

Ostfeld RS, Canham CD, Oggenfuss K, Winchcombe RJ and Keesing F. 2006. Climate, deer, rodents and acorns as determinants of variation in Lyme disease risk. *PLoS Biology* 4:145.

Oteo Revuelta JA and Estrada Peña A. 1991. *Ixodes ricinus*, a demonstrated vector of *Borrelia burgdorferi* in Spain. *Medicina Clínica* 96:15.

Palmer SR, Soulsby JL and Simpson DI (Eds.). 1998. *Zoonoses: biology, clinical practice, and public health control*. New York: Oxford University Press.

Parra TL, Cervantes FA, Salazar PM y de Haro I. 1990. Estudio de reservorios de *Trypanosoma cruzi* en el Estado de Morelos, República Mexicana, p. 48. *Memorias de la Reunión Nacional sobre Enfermedad de Chagas, Universidad Autónoma de Nayarit*.

Pereira JB, Willcox HP and Coura JR. 1985. Morbidade da doença de Chagas. III. Estudo longitudinal de seis anos, em Virgem da Lapa, MG, Brasil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 80: 163-171.

Pérez-Higareda G, Vogt RC y Flores-Villela O. 1987. *Lista anotada de los anfibios y reptiles de la región de Los Tuxtlas, Veracruz. Estación de Biología Tropical "Los Tuxtlas"*. Instituto de Biología UNAM México, D.F.

Perrín T, Dias E y Brenes M 1947. Nota previa sobre primeiras comprovações sorológicas da doença de Chagas no México. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 45: 395-400.

Peet RK. 1974. The measurement of species diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 5: 285-307.

Peterson AT, Sánchez-Cordero V, Beard CB and Ramsey JM. 2002. Ecologic niche modeling and potential reservoirs for Chagas disease, México. *Emerging Infectious Disease* 8: 662-667.

Peterson AT and Shaw J. 2003. *Lutzomyia* vectors for cutaneous Leishmaniasis in southern Brazil: ecological niche models, predicted geographic distributions, and climate change effects. *International Journal of Parasitology* 33: 919–931.

Pinto-Días JC. 1992. Epidemiology of Chagas' disease. In: Chagas' disease (American Tripanosomiasis): *Its impact on transfusions and clinical medicine*.

Wendel S, Brener Z and Camargo ME (Eds.). A ISBT Brazil pp: 49-80.

Portugal-García C, García-Vázquez Z, Monteón-Padilla V, Chávez-López V, Olamendi-Portugal M and Ramos C. 2011. Anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en humanos y perros y presencia del parásito en *Meccus pallidipennis* en la localidad de Puente Pantitlán Morelos, México. *Revista Biomédica* 22: 67-75.

Quan PL, Firth C, Conte JM, Williams SH, Zambrana-Torrel CM, Anthony SJ and Lipkin WI. 2013. Bats are a major natural reservoir for hepaciviruses and pegiviruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 110: 8194-8199.

Rahn DW and Malawista SE. 1991. Lyme disease: recommendations for diagnosis and treatment. *Annales of Internal Medicine* 114: 472-481.

Ramsey JM, Ordóñez R, Tello López A, Pohls JL, Sánchez-Cordero V and Peterson AT. 2003. Chagas disease in Mexico: morbidity, mortality, risk areas and disease burden. (Abstract) *XXX Annual Meeting on Basic Research in Chagas Disease – XIX Meeting of the Brazilian Society of Protozoology*. Caxambu MG (Ed.). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Brasil*. 45: 198.

Ramsey JM, Alvear AL, Ordoñez R, Muñoz G, García A, López R and Leyva R. 2005. Risk factors associated with house infestation by the Chagas disease vector *Triatoma pallidipennis* in Cuernavaca metropolitan area, Mexico. *Medical and Veterinary Entomology* 19:219–28.

Ramsey JM, Ordoñez R, Tello-López A, Pohls JL, Sanchez-Cordero V y Peterson AT. 2003. Actualidades sobre la epidemiología de la enfermedad de Chagas en México. En: *Iniciativa para la vigilancia y control de la enfermedad de Chagas en la República Mexicana*. Ramsey JM, Tello-López A, Pohls JL (Eds.). *Instituto Nacional de Salud Pública*. pp. 85-103.

Rebollar- Téllez TE y Méndez PC. 2012. Análisis morfométrico de poblaciones alopátricas de *Lutzomyia olmeca olmeca* y *Lutzomyia cruciata* (Diptera:

Psychodidae: Phlebotominae), vectores principales de la Leishmaniasis cutánea en el sureste de México. *Revista Biomédica* 23: 7-21.

Rebollar-Téllez EA, Tun-Ku E, Manrique-Saide PC and Andrade-Narváez FJ. 2005. Relative abundances of sandfly species (Diptera: Phlebotominae) in two villages in the same area of Campeche, in southern México. *Annales of Tropical Medicine Parasitology* 99:193–201.

Rebollar-Téllez EA, Ramírez-Fraire A and Andrade-Narvaez FJ. 1996. A two years study on vectors of cutaneous leishmaniasis: evidence for sylvatic transmission cycle in the state of Campeche, Mexico. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 91: 555-560.

Reyes A. y Arrivillaga J. 2009. Fauna Mammalia asociada a los focos de leishmaniasis neotropical. Situación en Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental* 49: 35-52.

Rodriguero MS and Gorla DE. 2004. Latitudinal gradient in species richness of the New World Triatominae (Reduviidae). *Global Ecology and Biogeography* 13: 75–84.

Ruddy S, Harris E Jr, Sledge CB and Kelly WN. 1997. Lyme disease. In: *Textbook of rheumatology*. Kelly WN (Ed.). 5th Ed. Philadelphia: WB Saunders Company pp: 1462-72.

Ruiz H, Escobedo J, Rebollar E and Barrera M. 2010. Mamíferos silvestres y sus patógenos zoonóticos. *Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán*.

*Enfermedades asociadas a la biodiversidad* pp.3

Ruiz-Pina HA and Cruz-Reyes A. 2002. The opossum *Didelphis virginiana* as a synanthropic reservoir of *Trypanosoma cruzi* in Dzidzilche, Yucatan, Mexico.

*Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 97: 613–620.

Salazar-Schettino PM, Bucio MI, de Haro I, Tay J y Alonso T. 1987. Reservorios y transmisores de *Trypanosoma cruzi* en el estado de Oaxaca. *Salud Pública de México* 29: 26-32.

Salazar-Schettino PM, Bucio MI, Cabrera M and Bautista J. 1997. First case of natural infection in pigs. Review of *Trypanosoma cruzi* reservoirs in Mexico.

*Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 92: 499-502.

Salazar-Schettino PM, De Haro I and Uribarren T. 1988. Chagas disease in Mexico. *Parasitology Today* 4:348-352.

Salazar PM, Rojas G, Bucio M, Cabrera M, Garcia G, Ruiz A, Guevara Y y Tapia R. 2007. Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* antibodies and associated risk

factors among the population under 18 years of age in Veracruz, Mexico. *Revista*

*Panamericana de Salud Pública* 22: 75–82

Saliba EK. 1999. Reservoirs hosts of cutaneous leishmaniasis. *Clinical in Dermatology* 17: 275-277.

Salinas-Meléndez JA, Avalos-Ramirez R, Riojas-Valdez VM and Martinez-Munoz A. 1999. Serological survey of canine borreliosis. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 41:1-3.

Salinas-Meléndez JA, Tamez-Gonzalez R, Welsh-Lozano O and Barrera-Saldaña HA. 1995. Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA in human skin biopsies and dog synovial fluid by the polymerase chain reaction. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 37:7-10.

Salomón OD. 2009. Leishmaniasis Vectors In The Americas. *Gazeta Médica da Bahia* 79: 3-15.

Sánchez-Cordero V and Flemming TH. *Biology of the Heteromyida*. In: Ecology of Tropical Heteromyids. Brown JH (Ed.). Special Publications 10. The American Society of Mammalogist. Pp: 596-616.

Sánchez-García L, Berzunza-Cruz M, Becker-Fauser I and Rebollar-Téllez EA. 2010. Sand flies naturally infected by *Leishmania (L.) mexicana* in the peri-urban area of Chetumal city Quintana Roo, México. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 104: 406-411.

Sánchez-Tejeda G, Rodríguez N, Parra CI, Hernández-Montes O, Barker DC and Monroy-Ostria A. 2001. Cutaneous Leishmaniasis caused by members of *Leishmania braziliensis* complex in Nayarit, State of Mexico. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 96:15-19.

Saunders M, Small A, Dediccoat M and Roberts L. 2012. The development and validation of a risk score for household infestation by *Triatoma infestans*, a Bolivian vector of Chagas disease. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 106: 677-682.

Schaldach W y Escalante-Pliego P. 1997. Introducción a las aves de Los Tuxtlas. En: *Los Tuxtlas el paisaje de la sierra*. González-Soriano E, Dirzo R y Vogt R. (Eds.). CONABIO-Instituto de Biología. p: 535.

Schofield CJ. 1994. *Triatominae. Biología y control*. W. Sussox: Eurocommunica Publications: 77.

Schofield CJ and Dias JC. 1996. Introduction and historical overview. En: *Taller Internacional sobre Genética Poblacional y Control de Triatóminos*. Schofield CJ, Dujardin JP y Jurberg J (Eds.). México, D.F. INDRE: 11-16.

Schofield CJ and Galvão C. 2009. Classification, evolution and species groups within the Triatominae. *Acta Tropica* 110:88–100.



Schofield CJ, Diotaiuti L and Dujadin JP. 1999. The process of domestication in Triatominae. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 94: 375–378.

Schofield CJ, Jannin J and Salvatella R. 2006. The future of Chagas disease control. *Trends in Parasitology* 22: 583-88.

Segura EL y Escobar-Mesa A. 2005. Epidemiología de la enfermedad de Chagas en el estado de Veracruz. *Salud Pública de México* 47:201-208.

Shaw JJ. 1988. Animal reservoirs of *Leishmania* in different ecological situations and their importance in the epidemiology of the disease. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 83: 486-490.

Sikes RS and Gannon WL. 2011. Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists – ASM. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *Journal of Mammalogy* 92: 235–253.

Silva ES, Gontijo CM and Melo MN. 2005. Contributions of molecular techniques to the epidemiology of Neotropical *Leishmania* species. *Trends in Parasitology* 21:550-551.

Singh-Behl D, La Rosa SP and Tomecki KJ. 2003. Tick-borne infections. *Dermatology Clinic* 21:237-44.

Skinner M, Flores M, Colunga I, Salinas C and Garza M. 2007. Enfermedad de Lyme 2007. *Medicina Universitaria* 9: 24-32.

Sonenshine DE. 1991. *Biology of Ticks*. Volume I. Oxford University Press, New York, pp. 447.

Soto M. 2004. El Clima. En: *Los Tuxtlas el paisaje de la Sierra*. Guevara S, Laborde J. y G. Sánchez (Eds.). Instituto de Ecología, A.C. y Unión Europea Xalapa Veracruz, México. Pp.195.

Soulsby E.J. 1988. Parasitología y Enfermedades Parasitarias en Animales Domésticos. 7a edición Interamericana: México. Pp: 823.

Steere AC. 2001. Lyme disease. *New England Journal Medical* 345:115-25.

Steinwald M, Swanson B and Waser P. 2006. Effects of spool and line tracking on small deserts mammals *The Southwestern Naturalist* 51:71-78.

Stephens CR, Jiménez HJ, González C, Ibarra-Cerdeña CN, Sánchez-Cordero V and González-Salazar C. 2009. Using biotic interaction networks for prediction in

biodiversity and emerging diseases. *PLoS ONE* 4:doi:10.1371/journal.pone.0005725.

Stoner KE. 2001. Differential habitat use and reproductive patterns of frugivorous and nectarivorous bats in tropical dry forest of northwestern Costa Rica. *Canadian Journal of Zoology* 79: 1626–1633.

Stoner KE. 2005. Phyllostomid bat community structure and abundance in two contrasting tropical dry forests. *Biotropica* 37: 591–599.

Suzán G, Marcé E, Giermakowski JT, Mills JN, Ceballos G, Ostfeld RS and Yates TL. 2009. Experimental evidence for reduced rodent diversity causing increased Hantavirus prevalence. *PLoS ONE* 4(5): e5461. doi:10.1371/journal.pone.0005461

Swaddle JP and Calos SE. 2008. Increased avian diversity is associated with lower incidence of human West Nile Infection: observation of the dilution effect. *PLoS ONE* 3(6): e2488.

Tay J, Salazar-Schettino PM, Velasco M, Haro I, García YY y Gutiérrez QM. 1979. Estudio epidemiológico de la enfermedad de Chagas en el Estado de Jalisco, República Mexicana. *Salud Pública de México* 21: 145-149.

Toledo VM, Carabias J, Toledo C y González-Pacheco C. 1989. La producción rural en México: alternativas ecológicas. Colección Medio Ambiente. México. Fundación Universo XXI. México.

Van Dam AP, Kuiper H, Vos K, Widjojokusumo A, Spanjaard L, De Jongh BM, Ramselaar CP, Kramer MD and Dankert J. 1993. Different genospecies of *Borrelia burgdorferi* are associated with distinct clinical manifestations in Lyme borreliosis. *Clinical of Infectious Disease* 17: 708-17.

Van Buskirk J and Ostfeld RS. 1995. Controlling Lyme disease by modifying the density and species composition of tick hosts. *Ecological Applications* 5: 1133-1140.

Van Wynsberghe NR, Silvia B, Canto-Lara AG, Damián-Centeno MF, Itzá-Ortiz F and Andrade-Narváez J. 2000. Retention of *Leishmania (Leishmania) mexicana* in naturally infected rodents from the State of Campeche, Mexico. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 95:595-600.

Vargas MH. 1993. Lyme disease in Mexico City. *Salud Pública de México* 35:435.

Vargas M, Gordillo G, Montiel-Parra G y Covarrubias Y. 2000. *Protocolo de colecta y preparación de reservorios y vectores de la enfermedad de Lyme*. Facultad de Ciencias-UNAM.

Vargas-Sandoval M. 1994. Colecta, preservación y montaje de artrópodos asociados a mamíferos silvestres. *Curador Entomológico y Acarológico* 1: 10-12.

Vazquez-Prokopec GM, Ceballos LA, Marcet PL, Cecere MC, Cardinal MV, Kitron U and Gürtler RE. 2006. Seasonal variations in active dispersal of natural populations of *Triatoma infestans* in rural northwestern Argentina. *Medical and Veterinary Entomology* 20: 273-279.

Velasco-Castrejón O, Rivas-Sanchez B, Munguia-Saldaña A y Hobart O. 2009. Leishmaniasis cutánea de perros en México. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología* 29: 135-140.

Velasco-Castrejón O y Rivas-Sánchez B. 2008. Apuntes para la Historia de la Enfermedad de Chagas en México. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México* 65: 57-78.

Vidal-Acosta V, Ibáñez-Bernal S y Martínez-Campos C. 2000. Infección natural de chinches Triatominae con *Trypanosoma cruzi* asociadas a la vivienda humana en México. *Salud Publica de México* 42: 496-503.

Villalobos G, Martínez-Hernández F, de la Torre P, Laclette JP and Espinoza B. 2011. Entomological indices, feeding sources, and molecular identification of *Triatoma phyllosoma* (Hemiptera: Reduviidae) one of the main vectors of Chagas

disease in the Istmo de Tehuantepec Oaxaca, Mexico. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 85: 490–497.

Villegas-García JC and Santillán-Alarcón S. 2001. Sylvatic focus of American Trypanosomiasis in the State of Morelos, Mexico. *Revista de Biología Tropical* 49: 685-688.

Wagner R and Ibáñez-Bernal S. 2009. Psychodidae (sand flies, and moth flies or owl flies) In: *Manual of Central American Diptera, Vol. 1*. NRC Research Press Ottawa Ontario, Canada. pp: 319–335.

Brown BV, Walter PH, Wilske B and Weber K. 1994. Lyme borreliosis: basic science and clinical aspects. *Lancet* 343: 1013- 1016.

Wang G, Van Dam AP, Le Fleche A, Postic D, Peter O, Barabton G, De Boer R and Spanjaard L. 1997. Genetic and phenotypic analysis of *Borrelia valaisiana* sp. Nov. (*Borrelia* genomic groups VS116 and M19). *International Journal of Systematic Bacteriology* 47: 926-32.

Weirauch C. 2008. Cladistic analysis of Reduviidae (Heteroptera: Cimicomorpha) based on morphological characters. *Systematic Entomology* 33: 229–274.

Wincker P, Telleria J, Bosseno MF, Cardoso MA, Marques P, Yaksic N and Brenière SF. 1997. PCR-based diagnosis for Chagas' disease in Bolivian children

living in an active transmission area: comparison with conventional serological and parasitological diagnosis. *Parasitology* 114: 367-373.

Wolff M and Castillo D. 2002. Domiciliation trend of *Panstrongylus rufotuberculatus* in Colombia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 97: 297-300.

Wood CL and Lafferty KD. 2013. Biodiversity and disease: a synthesis of ecological perspectives on Lyme disease transmission. *Trends in Ecology and Evolution* 28: 239-247.

World Health Organization. 2002. Control of Chagas disease: second report of the WHO expert committee.

World Health Organization. 2002. Second Report of the WHO Expert Committee. Control of Chagas Disease. Technical Report Series 905 Geneva. pp.109

World Organization for Animal Health. 2004.

Woolhouse M, Chase Topping M, Haydon D, Friar J, Matthews L, Hughes G and Grenfell B. 2001. Epidemiology - foot-and-mouth disease under control in the UK. *Nature* 411: 258–259.

Yeo MN, Acosta M, Llewellyn H, Sanchez S, Adamson S, Miles GA, Lopez E, González N, Patterson JS, Gaunt MW, de Arias AR and Miles M A. 2005. Origins

of Chagas disease: *Didelphis* species are natural hosts of *Trypanosoma cruzi* and armadillos hosts of *Trypanosoma cruzi* II, including hybrids. *International Journal of Parasitology* 35: 225–233.

Young DG and Duncan MA. 1994. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Memories American Entomologist Institute* 881 pp.

Zavala-Velásquez J, Barrera-Pérez M, Rodríguez-Félix ME, Guzmán-Marín E and Ruiz-Piña H. 1996. Infection by *Trypanosoma cruzi* in mammals in Yucatán, Mexico serological and parasitological study. *Revista de Instituto do Medicina Tropical de Sao Paulo* 38: 289–292.

Zeller JL, Burke AE and Glass RM. 2007. Lyme Disease. *Journal of the American Medical Association*. 297: 2664-2664. Referencias electrónicas

CDC 2004. *Leishmania* infection

[http://www.cdec.gov/ncidod/dpd/parasites/leishmania/factsht\\_leishmania.htm](http://www.cdec.gov/ncidod/dpd/parasites/leishmania/factsht_leishmania.htm)

[www.mamalsociety.org](http://www.mamalsociety.org)