



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Co-infecciones de *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) en  
*Triatoma pallidipennis* (Stal, 1945): efecto en la supervivencia y  
éxito reproductivo.**

**TESIS PROFESIONAL**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**B I O L O G O**

**P R E S E N T A:**

**NADECHA MONSERRAT PATIÑO URIOSTEGUI**

DIRECTORA

**ANA ERIKA GUTIÉRREZ CABRERA**

CONACyT- Centro de Investigación Sobre Enfermedades Infecciosas  
Instituto Nacional de Salud Pública.

CO-DIRECTORA

**ALBA NERI LECONA VALERA**

Centro de Investigación Sobre Enfermedades Infecciosas  
Instituto Nacional de Salud Pública

CUERNAVACA, MORELOS

11 de noviembre, 2021.

Co-infecciones de *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909)  
en *Triatoma pallidipennis* (Stal, 1945): efecto en la  
supervivencia y éxito reproductivo.



Cuernavaca, Morelos a 30 de abril de 2021.

**DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE**  
**DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES**  
**P R E S E N T E.**

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **NADECHA MONSERRAT PATIÑO URIOSTEGUI**, con el título del trabajo: **Co-infecciones de *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) en *Triatoma pallidipennis* (Stal, 1945): efecto en la supervivencia y el éxito reproductivo**. En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación por Tesis, como lo marca el artículo 4º del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

**A T E N T A M E N T E**  
***Por una humanidad culta***

**JURADO REVISOR**

**FIRMA**

PRESIDENTE: DR. JOSÉ GUADALUPE GRANADOS RAMIREZ

\_\_\_\_\_

SECRETARIO: DR. EFRAIN TOVAR SANCHEZ

\_\_\_\_\_

VOCAL: DRA. ANA ERIKA GUTIÉRREZ CABRERA

\_\_\_\_\_

SUPLENTE: M EN C. VERONICA CHAVEZ LÓPEZ

\_\_\_\_\_

SUPLENTE: DR.ALEJANDRO CORDOBA AGUILAR

\_\_\_\_\_



Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

**Sello electrónico**

**JOSE GUADALUPE GRANADOS RAMIREZ | Fecha:2021-05-05 14:22:00 | Firmante**  
 rolhxRdBNSu2uu+XdRNal3d5a4Aa5b17MjgBG7Qq1nL+RT0F0653EfcRHa9tnJOU/C+hxpOLN1hFLSo37pgd/PIWD1yGyK1K3Zln3KEKeXssk667Xz2efrqVqI6YUjZyYuK0/vZpGfLn/B9LMvGIsfnyYSx7hngUpv2lFi2KT+WUYpByE0vbe/eV1QZzZp1YOlnMifcCL+fH8yJ+PWqClzqgFGDjLovY6ZFiJlu30sgYau+rpKozjxCwso5bfVQu2KGPROuoisLAtXFFET6PCEar8AjzQNno/ld9oiNWjld8RNBuawDo6zliVbHILHsa+QQqth+cl2Xw==

**VERONICA CHAVEZ LOPEZ | Fecha:2021-05-05 15:07:32 | Firmante**  
 CUOoNZlqZxe6d3xsORVYJ3TqM865XOYPdOllfL7gLXa+MLx408ZDI33LfkUfcZf6TseSWlvbivLGS3IWWY62wbqpvKUY+QOHANOReZCnF9IA5QXKaEPHMe3axMGUOX19kxzeRjBjpQVl2c6Hq9UN7RqJpNwM39aPEBnBdY16S7bzulY9jucIV+WGP2IA1Z7kKbcPDHhwQhpJT2IDrPwsSrYUxmSB2svn2NzCW0Uwsm5BsXKNTHBn3yUNSOYzhLkn3iL4+QTIBDbEva3N4ZqGA4KOHsI7M27WleYy227DzmV5Nwo1qtM6QKM9atsJZv2dkY+iHWGe2pw==

**ALEJANDRO CÓRDOBA AGUILAR | Fecha:2021-05-05 16:04:54 | Firmante**  
 a3yMcvod5JYoTurs4/OQMg/4+YVQJOYsUsvkpw6uF6eOfZkmRBQyf1PLHlyRMNlxF16vvtqwh/X60cHCl5rFbAtasnaYLyg8OGfK4xgMCJsQMmZ1MvHq3b9JddWvCqfgh0DYX2A5v+F61W11Fv1SwpSxsfngp1ubyuP/DdOZ/nejvrorMaNKFOihJDYtzg3i1VcfrBoEdh2OKmRL2zHodfJG4BnLz8ms7uYFARpQJdkpckn6u7Sdt5JGEjppKRH2UVOOnQzxc8yYEUAnVtk5PUCNKzy0c427/sCzWUUVICID1n9UGVBJ7mGC6WJFu4kxaXoF1SB+mnyaAXKA==

**EFRAIN TOVAR SANCHEZ | Fecha:2021-06-14 10:51:57 | Firmante**  
 ATrrQVvLxBvy/M6ECB2sfGVIDDhpP1Gn465J+eZHh2tnjS8i+4QIUWIXxonjlp37kjlWfPsL+Q6hnrZAIQU9AAI1IUQTsWWNkCbM5rqy19ek8uku65Rk+gkZBUFDg6gyoTpeZRixcA3N9TDovh43SL+61pHa43Sg71GcabZ6AirWqTPZ/eYye9OKGAnrqVTZLMLHK/+eTtdNrytzvA9U6spqEAHULp7d9ybOnuOrqVIsWRan8xiTqoEORc8KniwX449nmVTq+ImEipR6YnN0MxagoCggkUFU09v9mogALargb0V+5RtJ6QKOMaXdkMkYGZxZclTWZ7qm+idRlZyF+w==

**ANA ERIKA GUTIÉRREZ CABRERA | Fecha:2021-06-28 12:07:36 | Firmante**  
 Zjtde+1W6/8OHChtsah7tjHjADUjpxgzf2/1MtrkKw+4qgnFED0EO16a1fp2Rgq/6Ap584QIROVpQ3FpAjxpfblWgWU/kYyrhPPwC28vvpvFaMin9CNGvOIAbq8tRAsr8szKRkqTFm/q41nA2/9vGZOseph1lwQje4QMYZNVZ7u10oXLk849eoes8KHSTAd7rlvzaOl8f6uGt4BatXyps6VnohpnRyINX7v2FwlRgUnO/pg5+lp2y7kIPQTA81eJOH6LHFoMQ+ADCaqObWJ5Mtz++sBl5aLoR3FsoEn9lFBPEdbYI3jvFX1n/PGEAk1aOeT7U6BsZscmLoSNKkg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



s3EFv0

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/zvQu1GaoJkEJL9iLD0Uqse83Kz9ArNq>



Una universidad de excelencia

RECTORÍA  
2017-2023

Este trabajo se realizó en el laboratorio dirigido por el **Dr. Mario Henry Rodríguez López**, del área “dirección de infección e inmunidad”, en el Centro de Investigación de Enfermedades Infecciosas (CISEI), dentro del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP).

Con apoyo del proyecto titulado “Moléculas de la membrana perimicroviliar en triatomíneos que inducen la replicación de *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas”.

Bajo la dirección de:

**Dra. Ana Erika Gutiérrez Cabrera.**

La codirección de:

**Dra. Alba Neri Lecona Valera.**

La asesoría de:

**Dr. Alejandro Córdoba Aguilar**

**Dr. Efraín Tovar Sánchez**

**Dra. Lorena González López**

**M. en C. Verónica Chávez López**

## AGRADECIMIENTOS

A mi asesora, la Dra. Ana Erika Gutiérrez Cabrera, por brindarme su confianza, su apoyo, por ser un gran ejemplo y por sus enseñanzas a lo largo de la realización del proyecto.

A mi codirectora, la Dra. Alba Neri Lecona Valera, por ser una gran maestra, por su paciencia, sabiduría y enseñanzas.

A las Doctoras, Lorena González y Dayana Navarro por su apoyo y amistad.

Al los Doctores, Alejandro Córdoba Aguilar, Efraín Tovar Sánchez, José Guadalupe Granados, Humberto Lanz Mendoza y a la M en C. Verónica Chávez López, por su colaboración, atención y seguimiento durante el proyecto.

Al Biol. Carlos Angel Quintana Ocampo por su apoyo incondicional.

A mis amigos y conocidos, Biol. Alan Pérez, Biol. Lilibeth Serrano, Gerardo Santos, Alexis Garcia Cigarrero, Biol. Luis Juárez, Yaquelin Guadarrama, Biol. Estefania Hidalgo, Melanie Regney, Javier Casarrubias, Dr. Federico Zumaya, Dra. Rocío Argote, Dra. María del Carmen Rodríguez QBP. Delia Suárez, Andrea Castrejón, Biol. Adrián Sánchez, que me apoyaron en algún momento de mi carrera o de mi tesis.

A todas las personas que ayudaron directa o indirectamente, con su amistad o el creer en mí y que me dejaron alguna enseñanza.

## DEDICATORIA

*A mis padres, Francelia Uriostegui Uriostegui e Ignacio Patiño Vergara, mis hermanas Pamela Dahiri Patiño Uriostegui y Lesly Estefani Patiño Uriostegui, mi cuñado Sakiry y a sobrinito Ignacio, por todo su amor, por su apoyo y por su confianza.*

## ÍNDICE

ÍNDICE	7
ÍNDICE DE FIGURAS	8
ÍNDICE DE TABLAS	8
ÍNDICE DE GRÁFICAS	5
ABREVIATURAS	9
GLOSARIO	10
1. INTRODUCCIÓN	14
2. MARCO TEÓRICO	16
2.1. Enfermedad de Chagas	16
2.2. El agente causal <i>T. cruzi</i>	17
2.3. Ciclo biológico del agente causal <i>T. cruzi</i>	18
2.4. Evolución clonal del agente causal <i>T. cruzi</i>	20
2.5. Insecto vector	24
2.6. Principal vector en Morelos <i>T. pallidipennis</i>	26
2.7. Respuesta inmune en triatomíneos	28
3. ANTECEDENTES	30
4. JUSTIFICACIÓN	32
5. HIPÓTESIS	33
6. OBJETIVOS	34
6.1. General	34
6.2. Particulares	34
7. MATERIAL Y MÉTODOS	35
7.1. Insectos	35
7.2. Cepas de <i>T. cruzi</i> utilizadas	36
7.3. Infección de los diferentes grupos experimentales	388
7.4. Medición de rasgos de vida	39
7.5. Análisis estadísticos	40
8. RESULTADOS	42
9. DISCUSIÓN	466
10. CONCLUSIONES	49
11. PERSPECTIVAS	50
REFERENCIAS	51



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Formas de <i>T. cruzi</i> en el ciclo de vida natural. _____	18
Figura 2. Ciclo de vida natural de <i>T.a cruzi</i> . _____	20
Figura 3. Marcadores moleculares que nos permiten ver las diferencias en tamaño de los tipos de <i>T. cruzi</i> del producto de (PCR). _____	21
Figura 4. Distribución geográfica de las DTU's de <i>T. cruzi</i> en el Continente Americano. _____	23
Figura 5. Eventos de hibridación que dieron origen a TcV y TcVI. _____	23
Figura 6. Mapa de la distribución de especies de la subfamilia Triatominae más representativas incluida <i>T. pallidipennis</i> . _____	26
Figura 7. Mapa de distribución de <i>T. pallidipennis</i> en la República mexicana. _____	27
Figura 8. Ciclo de vida de <i>T. pallidipennis</i> . _____	28
Figura 9. Formación de grupos. _____	35
Figura 10. Curva de crecimiento in vitro de la cepa Antonio (Tcl) en medio LIT (Liver Infusion Tryptose). _____	37
Figura 11. Curva de crecimiento in vivo de la cepa Antonio (Tcl) en ratón Balb/c. _____	37
Figura 12. Fotografía de forma de conteo en cámara de Neubauer por microscopia óptica con el lente objetivo de 40x. _____	38
Figura 13. Infección artificial con <i>T. cruzi</i> . _____	39
Figura 14. Comparación de los pesos entre grupos de <i>T. pallidipennis</i> después de la infección. _____	42
Figura 15. Supervivencia de los diferentes grupos de <i>T. pallidipennis</i> . _____	43
Figura 16. Supervivencia de <i>T. pallidipennis</i> en ninfas de V estadio eliminando los individuos que mudaron a adulto. _____	43
Figura 17. Supervivencia de Adultos (hembras y machos) de <i>T. pallidipennis</i> . _____	44
Figura 18. Ecdisis de ninfas de V a adultos de <i>T. pallidipennis</i> . _____	44
Figura 19. Número de individuos en porcentaje del total de hembras y machos de <i>T.pallidipennis</i> que mudaron de cada grupo. _____	45
Figura 20. Número de huevos totales y número de huevos que eclosionaron de cada grupo. _____	45

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Actualizaciones de la clasificación y caracterización de los aislados de <i>T. cruzi</i> . _____	22
Tabla 2. Número de especies de la subfamilia Triatominae reportadas. Enlistadas por tribu, género y número de especies. _____	25

## ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
An	Antonio
ANOVA	Análisis de Varianza
CAE	Carrera Armamentista Evolutiva
CLB	CL Brener
Co	Control
EC	Enfermedad de Chagas
ERO	Especies Reactivas de Oxígeno
G1	Grupo uno
G2	Grupo dos
G3	Grupo tres
G4	Grupo cuatro
MLEE	Electroforesis de Enzimas Multilocus (Multilocus Enzyme electrophoresis)
MPM	Membrana perimicroviliar (Perimicrobilian Membran PMM)
OMS	Organización Mundial de la Salud
ON	óxido nítrico
PAM	Péptidos antimicrobianos
PCR	Reacción en cadena de la Polimerasa (Polimerase Chain Reaction)
P-H	Parásito-Hospedero
PO	Fenoloxidasa
ProPO	Profenoloxidasa
P-V	Parásito-Vector
RAPD	Amplificación al azar de ADN polimórfico (Random Amplified Polymorphic DNA)
SL-IR	Región intergénica del miniexón (Spliced-Leader)
<i>T. cruzi</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
TcI	<i>Trypanosoma cruzi</i> DTU I
TcII	<i>Trypanosoma cruzi</i> DTU II
TcIII	<i>Trypanosoma cruzi</i> DTU III
TcIV	<i>Trypanosoma cruzi</i> DTU IV
TcV	<i>Trypanosoma cruzi</i> DTU V
TcVI	<i>Trypanosoma cruzi</i> DTU VI
<i>T. pallidipennis</i>	<i>Triatoma pallidipennis</i>
UDT	Unidades Discretas de Tipificación (Discreet Typing Units, DTU)

## GLOSARIO

ADECUACIÓN BIOLÓGICA/EFICACIA BIOLÓGICA /FITNESS AXÉNICO	Diferencias en el éxito reproductivo relacionadas con la variación genética en las poblaciones.
BLASFEROBLASTO	Cultivo de una sola especie no contaminado ni asociado con algún otro organismo viviente.
EDEMA BIPALPEBRAL	Núcleo donde se origina un flagelo.
ECOTOPO	Acumulación en los tejidos de la superficie interna del párpado, que causa hinchazón.
CARGA PARASITARIA	Espacio físico donde se desarrolla una comunidad biológica con ciertas características que en conjunto lo hacen único.
COEVOLUCIÓN	Expresa la cantidad de parásitos estimados contenidos en un hospedador.
COMENSALISMO	Evolución conjunta de dos o más especies.
COMPETENCIA	Asociación biológica entre dos o más especies para beneficio de una de ellas sin perjudicar o beneficiar a la otra.
COINFECCIÓN	Asociación biológica en la cual la aptitud o adecuación biológica de uno se reduce con la presencia del otro.
ESPECIE	Es la infección simultánea de un huésped por parte de múltiples agentes patógenos.
ÉXITO REPRODUCTIVO	Unidad básica de clasificación biológica. Es un conjunto de organismos o poblaciones naturales capaces de entrecruzarse y producir descendencia fértil, aunque en principio no con miembros de poblaciones pertenecientes a otras.
FISIÓN BINARIA	Fecundidad promediada por supervivencia. Se obtiene por ser capaz de transmitir sus genes a la próxima generación.
HEMATÓFAGO	Tipo de reproducción asexual en protozoos que consiste en la duplicación del ADN, seguida de la división del citoplasma (citocinesis), dando lugar a dos células hijas idénticas a las que le dio origen.
HEMIMETÁBOLO	Animal cuya alimentación está basada en el consumo de sangre.
HETEROXENO	Insecto cuya metamorfosis es gradual e incompleta, en esta etapa los estados juveniles o formas inmaduras son similares al adulto, las formas inmaduras son llamadas ninfa o náyade y se caracterizan por la ausencia de alas y los órganos genitales no desarrollados.
HOSPEDERO	Tipo de parásito que para completar su ciclo biológico requiere de dos o más hospederos.
HUÉSPED	Organismo que da albergue y/o alimento a otro individuo.
INFECCIÓN	Organismo que se aloja dentro de otro con la finalidad de obtener algún beneficio para completar parte de su ciclo de vida o todo su ciclo de vida.
INÓCULO	Proceso en el que un microorganismo patógeno invade a otro llamado hospedador, multiplicándose produciendo una enfermedad.
INTRADOMICILIARIO	Introducción voluntaria o accidental en tejidos vivos o en medios de cultivo.
ISOENZIMA	Organismo que se encuentra dentro de las casas pudiendo afectar la salud de las personas que habitan en ellas.
MACRÓFAGO	Enzimas que catalizan la misma reacción química.
MEGAESÓFAGO	Tipo de glóbulo blanco que rodea los microorganismos y los destruye, extrae las células muertas y estimula la acción de otras células del sistema inmunitario.
MEGACOLON	Trastorno del esófago en el que se produce un agrandamiento.
METACICLOGÉNESIS	Dilatación masiva del intestino grueso, acompañada de dificultad para eliminar heces y gases.
MUTUALISMO	Proceso biológico que experimentan naturalmente los epimastigotes de <i>T. cruzi</i> en su transformación a tripomastigotes metacíclicos en la ampolla rectal del insecto.
OVIPOSICIÓN	Asociación en la cual ambos individuos se benefician.
PARASITEMIA	Acto de poner huevos y periodo en el que se realiza la puesta.
	Presencia de parásitos en la sangre. Las parasitemias pueden ser medidas, y en dicho caso se expresa en n parásitos/mL.

PARÁSITO	Todo ser vivo que habita en la superficie o en el interior de otro denominado hospedero del que obtiene sustancias nutritivas y el medio adecuado para su desarrollo y/o multiplicación, y al que puede llegar a producir daño.
PATOGENICIDAD	Se refiere a la capacidad de un organismo parásito de causarle daño a un hospedero.
PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS	Moléculas efectoras clave en la inmunidad innata, son secretados por células epiteliales y leucocitos.
PERIDOMICILIADOS	Área que circunda una vivienda en un radio de no más de cien metros.
PERIODO PREPATENENTE	Etapas de la infección parasitaria comprendida desde el momento de la infección hasta la demostración de la presencia del parásito.
POLIMORFISMO	Variaciones de algún carácter determinadas genéticamente entre individuos de una especie.
DEPREDACIÓN	Interacción biológica en la que un individuo de una especie animal caza a otro individuo para subsistir.
RELACIONES INTERESPECIFICAS	Interacción entre dos o más individuos pertenecientes a diferentes especies.
RESERVORIO	Organismo en donde los parásitos pueden vivir, multiplicarse y ser fuente de infección para un hospedador susceptible.
SIMBIOSIS	Asociación entre dos individuos de diferentes especies con el objetivo de obtener un beneficio de dicha unión.
SUPERVIVENCIA	Estudio estadístico de los procesos aleatorios relacionados con la muerte de los organismos y el fallo de sistemas mecánicos.
VECTOR	Animal invertebrado que propaga la enfermedad entre un vertebrado infectado y otro sano.
VIRULENCIA	Grado de patogenicidad de una cepa o colonia microbiana en un huésped susceptible.
ZIMODEMA	Conjunto de cepas de microorganismos que comparten el mismo perfil isoenzimático.

## RESUMEN

Las interacciones interespecíficas tienen efectos positivos, negativos o neutros. En particular, en la depredación la especie hospedera registra efectos negativos. Dentro de la asociación parásito-hospedero, el parásito se co-adapta a su anfitrión a través de convergencias adaptativas. Las infecciones que generan los parásitos pueden ser provocadas por una sola especie, dos o más a las que llamamos co-infecciones. Poco se ha explorado acerca de cómo las co-infecciones por el mismo parásito, pero con diferente diversidad genética afectan las historias de vida del hospedero (P. ej. insectos). El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar distintos parámetros de las historias de vida del vector *Triatoma pallidipennis* infectado con cepas de *Trypanosoma cruzi* genéticamente diferentes, la primera perteneciente a la UDT I ó TcI y la segunda a la UDT VI ó TcVI. Para ello se formaron cuatro grupos con ninfas del V estadio: el grupo uno, infectado con la Cepa Antonio (TcI); grupo dos, infectado con la cepa CL Brener (TcVI); grupo tres, infectado con ambas cepas (TcI/TcVI) y el grupo cuatro sin infección por *T. cruzi*, representado como el grupo control. Se registró la supervivencia, el tiempo de muda, la oviposición y eclosión de huevos ovipositados para cada grupo, permitiendo ahondar en las historias de vida de este vector de importancia epidemiológica en México. Los resultados nos sugieren que no existen costos aparentes al estar infectado con las cepas Antonio, CL Brener o incluso co-infectado con ambas cepas. Estos resultados podrían tener diversas explicaciones entre ellas, 1. Las cepas utilizadas (Cepa Antonio TcI y CL Brener TcVI), no son suficientemente patógenas para el vector *T. pallidipennis*; 2. *T. pallidipennis* desarrolle tolerancia a la presencia de *T. cruzi* aún en las co-infecciones; y 3. La respuesta inmune generada ante *T. cruzi* es eficiente. Dicha falta de costos en el vector mantiene el riesgo de infección en humanos además de que la patogenicidad y los efectos en el hospedero vertebrado no son iguales que en el vector, por lo que es importante que se conozcan mejor y que se siga estudiando a las variantes de *T. cruzi* y a las interacciones con sus hospederos.

**Palabras clave:** Co-infección, costos, *Trypanosoma cruzi*, *Triatoma pallidipennis*, infección, interacción, vectores, Enfermedad de Chagas, adecuación.

## ABSTRACT

Interspecific relationships have positive, negative, or neutral effects on the host. In particular, the host species registers negative effects on predation. Within the parasite-host association, the parasite co-adapts to its host through adaptive convergence. The infections that parasites generate can be caused by a single species, two or more, which we call coinfections. We know little of how co-infections by the same parasite but with different genetic diversity, affect the life histories of the host (e. g. insects). The present work aimed to evaluate different parameters of the life histories of the *T. pallidipennis* vector infected with two genetically different *T. cruzi* strains, the first belonging to DTU I or TcI and the second to DTU VI or TcVI. Consequently, four groups each were formed: group one infected with the Antonio strain (TcI), group two infected with the CL Brener strain (TcVI), group three infected with both strains (TcI / TcVI) and group four without *T. cruzi* infection, represented as the control group. Survival, molting time, oviposition and hatching of oviposited eggs were recorded for each group, allowing delving into the life histories of this vector of epidemiological importance in Mexico. The results suggest that there are no apparent costs for being infected with the Antonio, CL Brener strains or even co-infected with both strains. These results could have various explanations among them, 1. The strains used, Antonio TcI and CL Brener TcVI, are not sufficiently pathogenic for the vector *T. pallidipennis*; 2. *T. pallidipennis* has developed tolerance to the presence of *T. cruzi* even in co-infections, and 3. The immune response generated against *T. cruzi* is efficient. Such lack of costs in the vector maintains the risk of infection in humans in addition to the pathogenicity and effects on the vertebrate host are not the same as in the vector, so it is important that they are better understood and that the variants of *T. cruzi* and the interactions with their hosts continue to be studied.

**Keywords:** Coinfection, costs, *Trypanosoma cruzi*, *Triatoma pallidipennis*, infection, interaction, vectors, Chagas disease, fitness.

## 1. INTRODUCCIÓN

Una **infección** es ocasionada cuando por ejemplo un parásito invade a un organismo llamado **hospedero**. Las infecciones parasitarias pueden deberse a una o a más especies de parásitos al mismo tiempo, llamadas como **coinfecciones** o infecciones mixtas. Estudios previos nos han mostrado que las infecciones pueden tener efectos negativos en los rasgos de vida de los hospederos como la talla, la reproducción o el tiempo de vida (Keymer 1980; Gwynn et al., 2005; Kalinda et al., 2017). Las relaciones **interespecíficas** (entre dos o más especies) que se generan de estas infecciones tienen distintos efectos (positivos, negativos o neutros). Entre las interacciones benéficas podemos encontrar al **mutualismo** y **comensalismo**, mientras que las que generan efectos negativos son la **competencia** y **depredación** (Krebs, 1985), un ejemplo es la asociación parásito-hospedero en la que los dos protagonistas desempeñan funciones activas y fundamentales que dependen del parásito involucrado llamada parasitismo (Palau, 2000).

Se sugiere que en la interacción del parásito-hospedero (P-H), el **parásito** se co-adapta a su anfitrión a través de convergencias adaptativas (información genética similar a la de su hospedero provocando que co-evolucionen) (McInnes, 1976; Nee y Maynard-Smith, 1990;), de igual manera el hospedero se ve afectado dando lugar a que ambos organismos evolucionen, a este fenómeno se le conoce como **coevolución** (Carius et al., 2001). Dicho modelo de coevolución, en el que existe afectación para uno de los organismos es llamado “Carrera Armamentista Evolutiva” (CAE) (Leigh Van Valen, 1973), donde los organismos van adaptándose para sobrevivir mientras compiten con otros organismos, lo que provoca que evolucionen a la par. Por ejemplo, el parásito provoca que disminuya la adecuación del hospedero, quien por recombinación o mutación mejora su respuesta y dispersa el carácter dentro de la población, eventualmente pasa lo mismo con el parásito, ocasionando que se repita el ciclo (Bush et al., 2001).

Un hospedero puede ser también un **vector** de patógenos, por ejemplo los insectos, ellos pueden transmitir enfermedades infecciosas a otros organismos (OMS, 2019). En la interacción parásito-vector (P-V) se ha propuesto que el parásito cubre sus necesidades mientras los costos del vector aumentan teniendo efectos en el vector, como por ejemplo en la reducción del tiempo de vida (Schmid-Hempel, 2011), reducción del peso corporal (Boto-Mahan, 2009; Elliot et al., 2015)

reducción de la fecundidad, entre otras características de las historias de vida de dichos insectos (Schaub, 2009; de Fuentes, 2018). A partir de lo mencionado, se pensaría que un vector parasitado reduce su adecuación (**fitness**), es decir, se reduce la eficacia biológica de su genotipo que incluye su capacidad de sobrevivir, encontrar una pareja, producir descendientes y en última instancia, dejar sus genes en la siguiente generación (Astete-Espinoza et al., 2000). Al reducirse la **adecuación** de los insectos vectores se espera un menor riesgo en la propagación del parásito. Pero debido a la necesidad del vector por la búsqueda de alimento se eleva el riesgo de infección en humanos (Schaub, 1989; Botto-Mahan et al., 2006; 2008).

Existen diferentes modelos biológicos de interacciones. Dentro de los insectos vectores de enfermedades de importancia médica se encuentran los dípteros de los géneros *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Lutzomia*, *Simulium*; y los hemípteros, específicamente del género *Rhodnius*, *Triatoma* y *Panstrongylus*. En cuanto a los parásitos transmitidos por los insectos vectores, se enlistan diferentes arbovirus y protozoarios como: *Plasmodium*, *Leishmania*, *Trypanosoma brucei* y *Trypanosoma cruzi*. Dichas asociaciones ocasionan en humanos enfermedades como dengue, zika, chikungunya, fiebre amarilla, para los arbovirus; paludismo, enfermedad del sueño y la enfermedad de chagas en cuanto a protozoarios (OMS, 2020).

En el caso de los vectores hemípteros de la subfamilia Triatominae y su agente causal el protozoario *T. cruzi*, existen diferentes componentes de su biología que considerar. Por ejemplo, *T. cruzi* tiene una reproducción asexual tanto en el vector como en el hospedero mamífero. Dicha reproducción asexual confiere la existencia de múltiples cepas o aislados en una misma población de *T. cruzi* (ver marco teórico) que se ve reflejada en los patrones de **virulencia** y **patogenicidad** ocasionada en el hospedero mamífero (Palau, 2000). Sin embargo, existen pocos trabajos que aborden cómo dicha diversidad genética afecta la adecuación del insecto vector. Los parásitos de *T. cruzi*, por ejemplo, dependen del vector tanto metabólicamente como evolutivamente (Pereira et al., 2008). Las modificaciones más significativas en el insecto vector son sobre todo a nivel de respuesta inmune debido a las implicaciones genéticas que se generan (Martínez, 1999) (ver marco teórico).



## 2. MARCO TEÓRICO

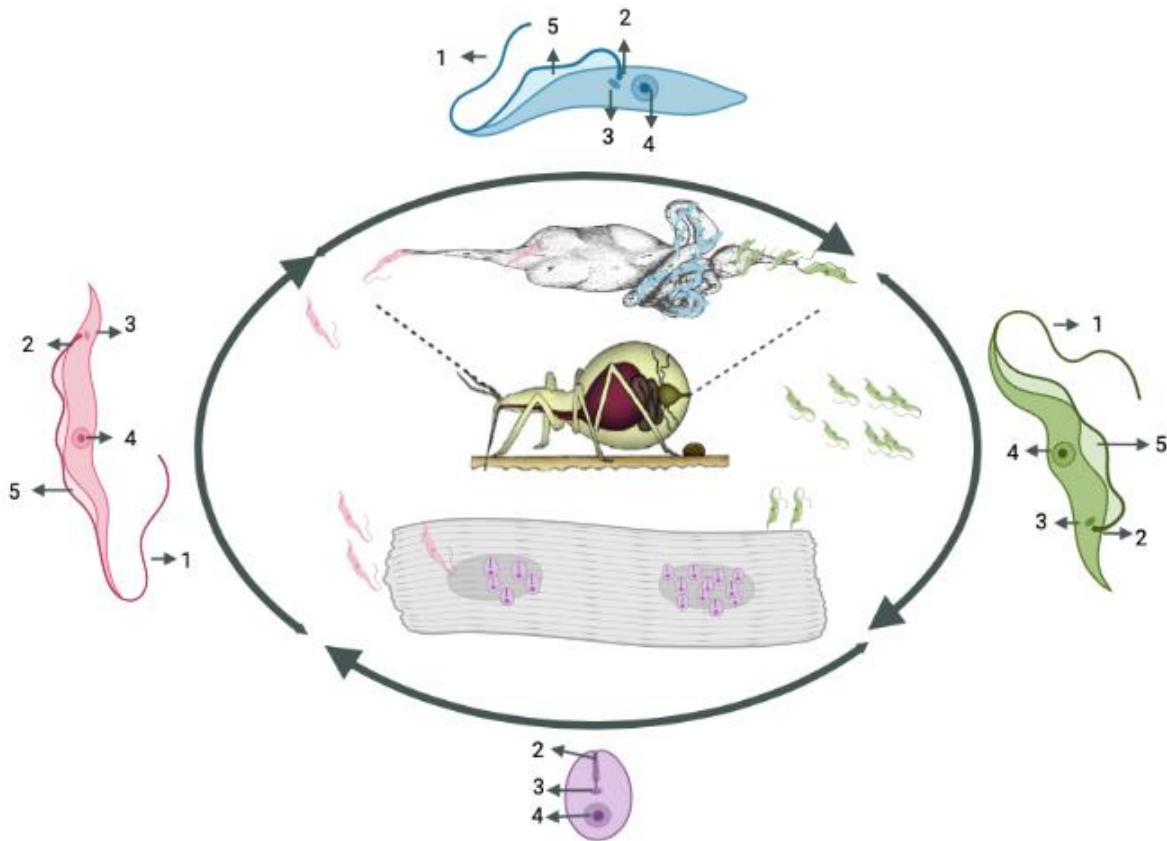
### 2.1. Enfermedad de chagas

La enfermedad de chagas (EC) es causada por el parásito *T. cruzi* y el mecanismo de transmisión es principalmente por contacto de las heces del insecto vector de la subfamilia Triatominae a diversos mamíferos (Chagas, 1909, 1911). La EC en humanos cursa por dos fases: la fase aguda y la fase crónica; donde la aguda puede ser asintomática, pero es la más virulenta y dura aproximadamente entre treinta y sesenta días (OMS, 2021). Cuando es sintomática se caracteriza por presentar fiebre, dolor muscular, abdominal y torácico; y se puede apreciar una hinchazón en el lugar de la picadura de la chinche, donde también entra el parásito (Brenner, 1973). Si el inóculo e infección se da en los párpados se denomina signo de Romaña generando una inflamación **palpebral** o bien si el **inóculo** ocurre en cualquier parte del cuerpo se denomina chagoma. En la fase aguda podemos encontrar en circulación por el torrente sanguíneo al parásito en su forma de tripomastigote. Entre 10 y 30 años posterior a la inoculación del parásito, sólo el 30 % de los casos de la fase aguda puede evolucionar a la fase crónica (OMS, 2021). En la fase crónica los parásitos circulantes entran a células nucleadas y se transforman a amastigotes localizados generalmente en los tejidos del músculo cardíaco, del sistema digestivo y nervioso; provocando arritmias, taquicardias, e insuficiencia cardíaca (Rojo-Medina et al., 2018) signos como **megacolon** o **megaesófago** (Galvaocastro et al., 1984) y con el tiempo puede causar la muerte (OMS, 2019).

Como se mencionó anteriormente, la forma de contagio predominante es la vía vectorial (80% de los casos), sin embargo, existen vías de transmisión no vectoriales como, la ocasionada al ingerir alimentos o bebidas contaminadas con el parásito; por transfusiones sanguíneas que abarca un 20% de los casos (OPS, 2019); la transmisión por trasplantes (Pinto, 1984; Schmunis y Yadon, 2010; Martínez et al., 2019); y por vía materna, conocida como vía congénita, abarcando el 1% de los casos (OPS, 2019). Por último, la transmisión por accidentes de laboratorio, es decir, al manipular al parásito o al vector infectado, es otra ruta de contagio por *T. cruzi* (Hofllin et al., 1987).

## 2.2. El agente causal *Trypanosoma cruzi*.

*T. cruzi* es un parásito flagelado que pertenece al Phylum: Sarcomastigophora, subphylum: Mastigophora, clase: Zoomastigophora, orden: Kinetoplastida y familia: Trypanosomatidae. (Castro y Llaca, 2013). Las principales formas del parásito son: tripomastigote (sanguíneos y metacíclicos), epimastigote y amastigote (Schaub, 1989; Figura 1). Todas las formas poseen un organelo especializado llamado cinetoplasto que contiene ADN, diferenciándolas de acuerdo con su posición (Maldonado, 2000) y con la presencia o ausencia de una membrana ondulante. La forma de tripomastigote tiene una longitud de 10-25µm, es un parásito extracelular y no replicativo. En la parte anterior del parásito se encuentra el **blasteroblasto** donde emerge una membrana ondulante a lo largo de todo el cuerpo que termina en flagelo lo que le da movimiento. El tripomastigote presenta un núcleo central y el cinetoplasto se ubica posterior al núcleo. El tripomastigote metacíclico es infectivo para mamíferos, mientras que el tripomastigote sanguíneo lo es para el vector y mamíferos. La forma de amastigote es esférica, con un diámetro de 2-4 µm, no presenta flagelo, su núcleo es prominente y contiene el cinetoplasto cerca de él (Santos-Bush 1979; García et al., 2007). Esta etapa del parásito se replica dentro de la célula del hospedero mamífero por **fisión binaria**, destruyendo a la célula para la liberación de más tripomastigotes al torrente sanguíneo. Por último, la forma de epimastigote, tiene una replicación asexual dentro del vector (Azambuja et al., 2005) y una longitud de 18-20µm, presenta un núcleo central y prominente, el cinetoplasto se ubica anterior al núcleo (Uribarren, 2018). Los epimastigotes cuentan con flagelo que emerge de la parte media del parásito formando la membrana ondulante más pequeña que la del tripomastigote (Wainszelbaum, 2002).



**Figura 1.** Formas de *T. cruzi* en el ciclo de vida natural. 1. Flagelo, 2. Depresión flagelar 3. Cinetoplasto, 4. Núcleo, 5. Membrana ondulante (tomado de Ibáñez-Carlos, 1989).

### 2.3. Ciclo biológico del agente causal *T. cruzi* (Chagas, 1909)

El ciclo de vida de *T. cruzi* es **heteroxeno** ya que interviene en su biología el reservorio mamífero y el insecto vector (García et al., 1999; Ferreira et al., 2016). Dentro del vector, el desarrollo de *T. cruzi* ocurre exclusivamente en el tracto digestivo (Figura 2). En la región del estómago (intestino anterior) ocurre la transformación de la forma tripomastigote sanguíneo a la forma epimastigote; en la región del intestino (intestino posterior) la replicación del epimastigote; y en la región del recto, la **metaciclogénesis** es decir, la transformación del epimastigote a tripomastigote metacíclico (Zeledón, 1987; García et al., 1999; González et al., 1999; Cortez et al., 2012; Días et al., 2015; Ferreira et al., 2016). El ciclo de vida de *T. cruzi* en el vector inicia cuando el insecto triatómino se alimenta de sangre, generalmente de mamífero que contiene al parásito en su forma de tripomastigote, una vez dentro del vector tarda un aproximado de 15-30 días en poder llegar al

recto para ser infectante y permanecer toda la vida del vector dentro de él (García et al., 2010). Los tripomastigotes recorren el tracto digestivo del insecto, evadiendo la acción de los componentes del suero (enzimas digestivas, hemolisinas, aglutininas, factores antimicrobianos), así como la microbiota (García et al., 2019) transformándose después a epimastigotes. Para que el parásito en su forma de epimastigote pueda replicarse por fisión binaria, es necesario que llegue a la región media del intestino y se adhiera por el flagelo a la membrana perimicroviliar (MPM) para ello son necesarias las moléculas de fosfolípidos de glicoinositol (GIPLs) que se encuentran en la superficie de los epimastigotes (Nogueira et al., 2007). Los tripomastigotes metacíclicos se diferencian con un proceso llamado metaciclogénesis, estos se adhieren al epitelio rectal del insecto vector que al soltarse son eliminados por orina o heces para invadir al mamífero (Toso et al., 2011). El parásito entra al hospedero mamífero por heridas o mucosas, en la forma de tripomastigote metacíclico (Cancino-Faure, 2016). Una vez que los tripomastigotes entran al organismo invaden **macrófagos** (Kipnis, Calich y Da Silva, 1979; Montiel y Díaz, 2002) para poder diferenciarse en la etapa de amastigote, en esta etapa se replican por fisión binaria y algunos se diferencian a tripomastigotes que son liberados al torrente sanguíneo cuando la célula invadida se destruye, los parásitos se mueven por el torrente sanguíneo e invaden células del sistema reticuloendotelial, del sistema nervioso, los músculos y el miocardio (Brenner, 1973). Cuando los tripomastigotes son liberados al torrente sanguíneo pueden ser ingeridos por el vector, repitiéndose el ciclo de vida.

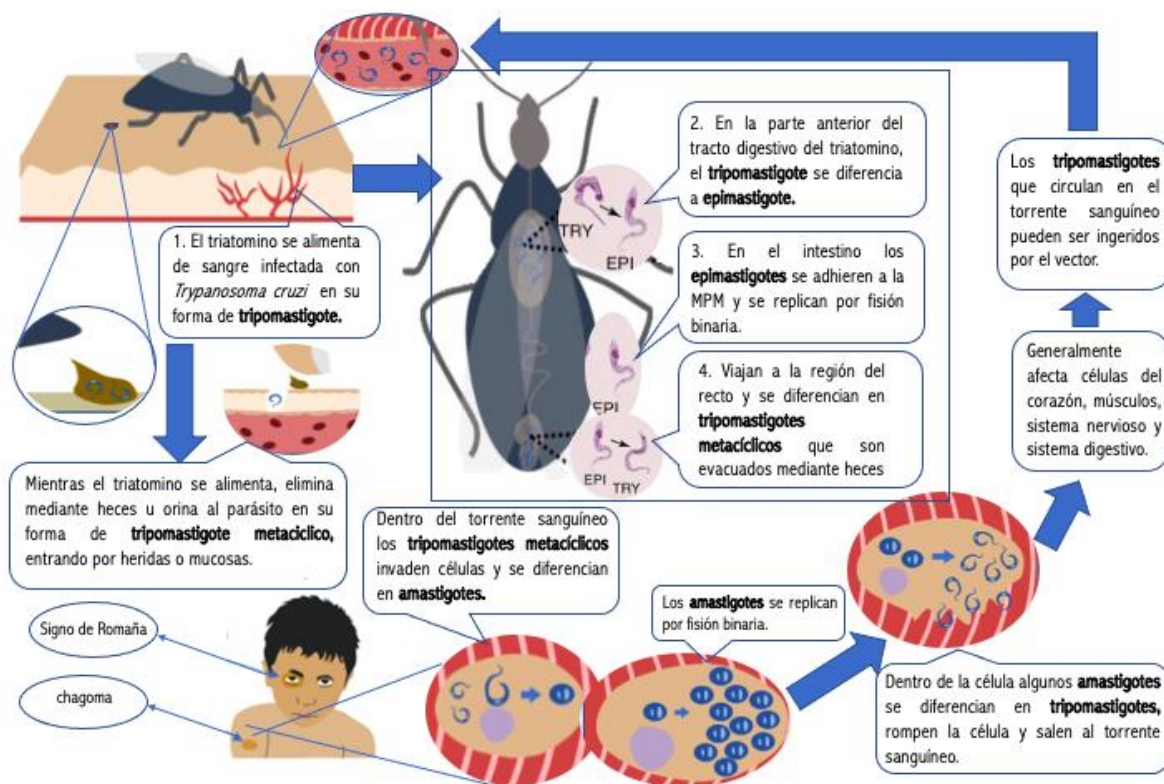
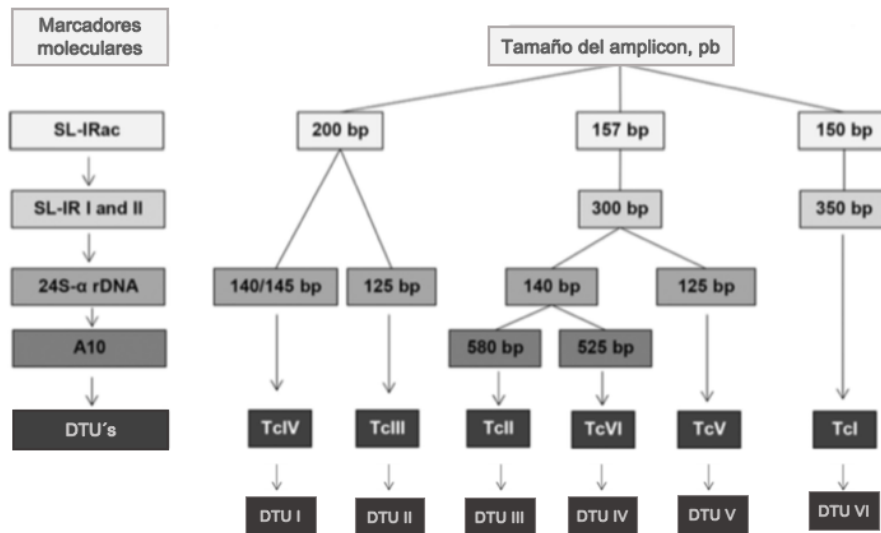


Figura 2. Ciclo de vida natural de *Trypanosoma cruzi* (tomado de Pérez-Molina, 2018; Alberca, 2018).

#### 2.4. Evolución clonal del agente causal *T. cruzi*

La reproducción de *T. cruzi* es asexual y aunque sus recombinaciones genéticas son limitadas aún así ocurren, por lo que presenta una población compuesta de varias subpoblaciones de parásitos (Tibayrenc et al., 2018). Se ha reportado una gran diversidad en la morfología del estadio de *T. cruzi*, en la velocidad de multiplicación, capacidad de invasión, en el perfil de antígenos y propiedades bioquímicas, en el tropismo tisular, en la sensibilidad frente a drogas tripanocidas y en la transmisibilidad por el insecto vector (Brenner, 1965; Brenner, 1973), debido a ello se ocuparon marcadores bioquímicos, genéticos e inmunológicos para su clasificación (Tabla 1). A partir de 1999, diversos autores clasificaron la diversidad de *T. cruzi* en dos grandes grupos o dos linajes, basándose sus características biológicas (Andrade, 1974) bioquímicas y moleculares (Morel et al., 1980; Miles et al., 1981, Tybarenc y Ayala, 1991; Freitas et al., 2006; Herrera et al., 2007) denominándolos como TcI y TcII. Al descubrir más variantes de TcII se clasificó para el linaje TcII, en TcIIa-TcIIe según su tamaño cromosomal (Tibayrenc et al., 2003). Tiempo después se

descubrieron cepas de *T. cruzi* que no podían clasificarse en esos dos grupos por lo que se originó un tercero llamado TcIII (Freitas et al., 2006). Con la inclusión de más marcadores moleculares (Souto et al., 1996; Fernandes et al., 1998; Brisse et al., 2001; Mendonça et al., 2002; Figura 3) y con un mayor conocimiento de la estructura en la población de *T. cruzi* se reclasificaron en seis grupos TcI-TcVI (Zingales et al., 2009).



**Figura 3.** Marcadores moleculares que nos permiten ver las diferencias en tamaño de los tipos de *T. cruzi* del producto de (PCR) (tomado de Souto et al., 1996; Fernandes et al., 1998; Brisse et al., 2001; Mendonça et al., 2002).

Dicha diversidad genética de *T. cruzi* se ve reflejada en diferentes aspectos, como en la infectividad a distintos tipos de células (Doyle et al., 1984) en las curvas de parasitemia (Brener et al., 1974; Ávila y Muñoz, 1981) en la patogenicidad dentro del vector, la patogenicidad dentro del hospedero, (Postan et al., 1983) y en la cinética de crecimiento (Dvorak et al., 1980). En cuanto a las características bioquímicas, se encontraron diferencias en la composición antigénica (Nussensweig et al., 1963; Ketteridge, 1975; González et al., 1984; Kirchhoff et al., 1984), en el metabolismo oxidativo y el contenido de diferentes enzimas (Engel et al., 1990), en el contenido de ADN por organismos (Dvorak et al., 1982; Kooy et al., 1989) y en el cariotipo y localización cromosómica de distintos genes (Gibson y Miles, 1986; Engman et al., 1987; Henriksson et al., 1990).

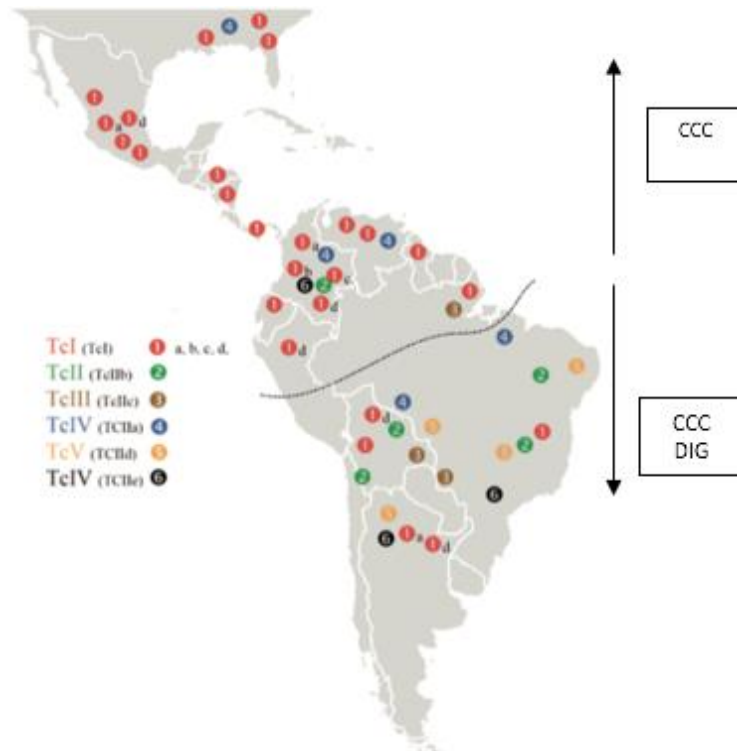
Actualmente las diferentes cepas de *T. cruzi* se clasifican en siete Unidades Taxonómicas Discretas, Unidades Discretas de Tipificación (UDTs) o por sus siglas en inglés Discrete Typing Units (DTUs) (Zingales et al., 2012). Las DTU's de la TcI a la TcVI, más TcBat. En México y América Central

la DTU predominante es TcI; mientras que en Sudamérica predomina de la TcII a la TcVI (Uribarren, 2018; Figura 4). En la naturaleza, es posible que más de una cepa de parásito genéticamente diferente estén coexistiendo tanto en el hospedero mamífero como en el insecto vector (Andrade et al., 1999; Printo et al., 2000; Aparicio et al., 2019). Los intercambios genéticos ocasionales podrían ser la fuente de una mayor diversidad de *T. cruzi* (Bogliolo et al., 1996; Carrasco et al., 1996). Dicha diversidad del parásito se ha correlacionado con la diversidad de sintomatología presentada en humanos (Macedo y Peña 1998; Macedo et al., 2002, 2004; Jiménez et al., 2018). Además, se ha reportado que las cepas de *T. cruzi* suelen adaptarse mejor a las especies de vectores del mismo origen geográfico (Ryckman, 1965; Zeledón, 1987; Laurent et al., 1997) o cepas con las que interactúan normalmente.

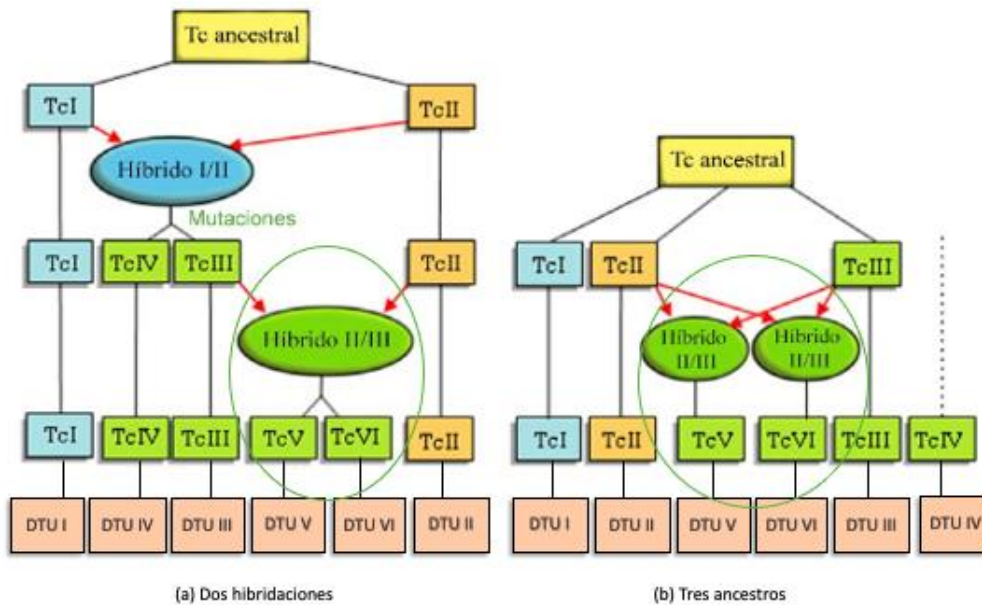
En 2005, El-Sayed y colaboradores publicaron la secuencia completa del genoma de *T. cruzi* que contiene 55 millones de pares de bases utilizando el clon de referencia CL Brener (Brener y Chiari, 1963), un clon híbrido perteneciente al grupo TcVI (Zingales et al., 2009; Sturm y Campbell, 2010) proveniente del receptor parental TcII y del donante híbrido de los dos grupos parentales (TcI y TcII) llamado TcIII (Freitas et al., 2006; Figura 5) tal evento fue uno de los que redefinió la estructura poblacional de *T. cruzi* propuesta con anterioridad.

**Tabla 1.** Actualizaciones de la clasificación y caracterización de los aislados de *T. cruzi* (Brisse et al., 2001 ; Buscaglia et al., 2003 ; Lewis et al., 2009; Zingales et al., 2009).

Año de actualización	Miles et al., 1978	Andrade, 1974; Brodskyn et al., 1983	Tibayrenc et al., 1986	Souto et al., 1996	Fernandes et al., 1998	Anonymous 1999	Brisse et al., 2001	Tibayrenc et al., 2008	Freitas et al., 2006	Zingales et al., 2017
Método de clasificación	MLEE (6 enzimas), MLEE (15 enzimas), PCR-RFLP del ADNr, Microsatélites, polimorfismo	Comportamiento en Infecciones experimentales	MLEE	Mini-exón, tamaño ADNr y polimorfismos	Mini-exón	Anticuerpos (TSSA-I/TSSA-II)	MLEE, RAPD	MLEE, RAPD	Tamaño ADNr	Marcadores moleculares (SI-IRac, SL-IR I y II, 24S- $\alpha$ rDNA, A10)
	Término (Zimodema)	Término (Biograma)	Término (Clonot)	Término (Linaje)	Término (Linaje)	Término (Grupo)	Término (DTU)	Término (DTU)	Término (Linajes)	Término (DTU)
Población de referencia (Silvio X10, Colombiana)	Z1	Biograma I	1-25	Linaje 2	Linaje 2	T. cruzi I	T. cruzi I - DTU 1	Tc I	T I	Tc I - DTU I
Población de referencia (Esmeraldo, JG)	Z2	Biograma II	30-34	Linaje 1	Linaje 1	T. cruzi II	T. cruzi IIb - DTU 2 b	Tc IIb	T II	Tc II - DTU II
Población de referencia (M5631, M6241)	Z3/Z1 ASAT	Biograma III	35-37	-	Sublinaje 2'	-	T. cruzi IIc - DTU 2c	Tc IIc	Tc III	Tc III - DTU III
Población de referencia (CanII)	Z3	-	26-29	-	Sublinaje 2'	-	T. cruzi IIa - DTU 2a	Tc IIa	-	Tc IV - DTU IV
Población de referencia (MN c12, SC 43)	Z2b	-	38-39	Grupo 1/2	Linaje 1	-	T. cruzi II d - DTU 2d	Tc II d	Híbrido	Tc V - DTU V
Población de referencia (CL Brener)	-	-	40-43	Linaje I	Linaje 1	-	T. cruzi II e - DTU 2e	Tc II e	Híbrido	Tc VI - DTU VI



**Figura 4.** Distribución geográfica de las DTU's de *Trypanosoma cruzi* en el Continente Americano (Patterson y Guhl, 2010) y su patología prevalente; cardiomiopatía chagásica crónica (CCC), forma digestiva (DIG) (tomado de Zingales et al., 2018).



**Figura 5.** Eventos de hibridación que dieron origen a TcV y TcVI (Zingales et al., 2012). (a) modelo en el que se sugiere que se dieron dos eventos de hibridación, el primero que da origen a TcIII y el segundo que da origen a TcV y TcVI producto del primer híbrido TcIII y el parental TcII (Westenberg et al., 2005). (b) modelo de tres ancestros en donde TcI y TcII dieron origen a TcV y TcVI (Freitas et al., 2006).



## 2.5. Insecto vector

Los insectos vectores que transmiten la EC son los triatominos también llamados comúnmente chinches, vinchucas, chipo, kissing bugs, barbeiro o chichahuazu. Los triatominos son insectos **hematófagos** durante todas sus etapas de desarrollo (Tartarorri et al., 2006) y **hemimetábolos** de hábitos nocturnos (Salazar et al., 2010). Estos insectos pueden alcanzar 12 veces su peso corporal después de una alimentación (Schofield, 1980), así como durar varios meses sin alimentarse, y si están infectadas por *T. cruzi* mantener la infección durante toda su vida (Zavala et al., 2008). Estos insectos pertenecen al Orden Hemiptera (Linnaeus, 1758), Familia Reduviidae (Latreille, 1807) y Subfamilia Triatominae (Latreille, 1807; Jeannel, 1919; Uribarren, 2018). Existen aproximadamente 151 especies de triatominos reportadas, (149 existentes y dos fósiles; Justi y Galvão., 2016) repartidas en 5 tribus y 18 géneros (WHO, 2002; Dujardin et al., 2002; García et al., 2007; Espinoza de Aquino, 2012; Justi et al., 2014; Galvão, 2016; ver Tabla 2). Su distribución abarca principalmente al continente americano (Figura 4) encontrándose infectadas por *T. cruzi* al 67% de estas especies (Vidal-Acosta, 2000; Martínez et al., 2006; Rassi et al., 2010). Entre las especies con hábitos **intradomiciliarios** se pueden enlistar a *Triatoma barberi* y *Triatoma dimidiata*, de hábitos **peri domiciliados**: *Triatoma longidipennis*, *Triatoma mazzottii*, *Triatoma pallidipennis*, *Triatoma phyllosoma*, *Triatoma picturata*, *Triatoma gerstaeckeri*, *Triatoma mexicana*, *Triatoma rubida*, *Dipetalogaster maxima*, *Pastrongylus rufotuberculatus* y *Rhodnius prolixus* (Cortes et al., 2005). La asociación de dichas especies de triatominos con los humanos influye drásticamente en la transmisión vectorial de *T. cruzi*, así como la facilidad de ocupar distintos **ecotopos** (Noireau et al., 2005; Cortez et al., 2007; Buitrago et al., 2010; Espinoza Echeverria et al., 2017).

En México se han reportado más de 32 especies transmisoras de *T. cruzi* (Zárate y Zárate, 1985; Vidal-Acosta et al., 2000; Galvão et al., 2003; Martínez et al., 2006; Tay et al., 2008; Licón-Trillo et al., 2010) distribuidas en toda la República Mexicana en siete géneros: *Dipetalogaster* (Usinger, 1894), *Eratyrus* (Stål, 1859), *Paratriatoma* (Barber, 1938), *Panstrongylus* (Berg, 1811), *Belminus* (Stål, 1859), *Triatoma* (Laporte, 1832) y *Rhodnius* (Stål, 1859) de éstas, 28 especies son endémicas y 23 se reportan como infectadas naturalmente con *T. cruzi* (Chagas, 1909). Las especies de triatomas consideradas como vectores de importancia médica (Martínez et al., 2006)

son 19, principalmente del género *Triatoma*, así como una especie por género de los siguientes: *Dipetalogaster*, *Eratyrus*, *Paratriatoma* (Fuentes- Vicente et al., 2018). El género *Dipetalogaster*, al igual que 8 especies del género *Triatoma* son exclusivos de México (Galvao et al., 2003) entre las especies endémicas reportadas en México con importancia epidemiológica se encuentran: *T. phyllosoma*, *T. picturata*, *T. pallidipennis*, *T. mazzottii*, *T. mexicana*, y *T. bassolsae*, juntas forman el complejo *Phyllosoma* (Martínez et al., 2006).

**Tabla 2.** Número de especies de la subfamilia Triatominae reportadas. Enlistadas por tribu, género y número de especies (Molina et al., 2000; Castillo y Wolff, 2000; Chávez, 2006; Justi y Galvão, 2016). Resaltadas en azul están los géneros que para algunos autores sustituyen a algunas especies del género *Triatoma*.

TRIBU	GÉNERO	ESPECIE
Alberproseniini (Martinez y Carcavallo, 1977)	<i>Alberprosenia</i> (Martinez y carcavallo, 1977)	2
Bolboderini (Usinger, 1944)	<i>Belminus</i> (Stal, 1859)	8
	<i>Microtriatoma</i> (Prosen y Martinez, 1952)	2
	<i>Bolboderia</i> (Valdes, 1910)	1
	<i>Parabelminus</i>	2
Cavernicolini (Usinger, 1944)	<i>Cavernicola</i> (Barber, 1937)	2
	<i>Torrealbaia</i>	1
Rhodniini (Pinto, 1926)	<i>Psammolestes</i> (Bergroth, 1911)	3
	<i>Rhodnius</i> (Stal, 1859)	20
Triatomini (Jeannel, 1919)	<i>Dipetalogaster</i> (Usinger, 1939)	1
	<i>Eratyrus</i> (Stal 1859)	2
	<i>Hermanlenia</i> (Juberrg y Galvao, 1997)	1
	<i>Linshcosteus</i> (Distant, 1904)	6
	<i>Meccus</i> (Stal., 1859)	
	<i>Mepraia</i> (Mazza et al., 1940)	
	<i>Nesotriatoma</i> (Usinger 1994)	
	<i>Panstrongylus</i> (Berg, 1879)	15
	<i>Paratriatoma</i> (barber, 1938)	1
	<i>Triatoma</i> (Laporte, 1832)	84
<b>Total</b>		<b>151</b>



**Figura 6.** Mapa de la distribución de especies de la subfamilia Triatominae más representativas incluida *T. pallidipennis* (De fuentes, 2018).

## 2.6. *Triatoma pallidipennis*: principal vector en Morelos

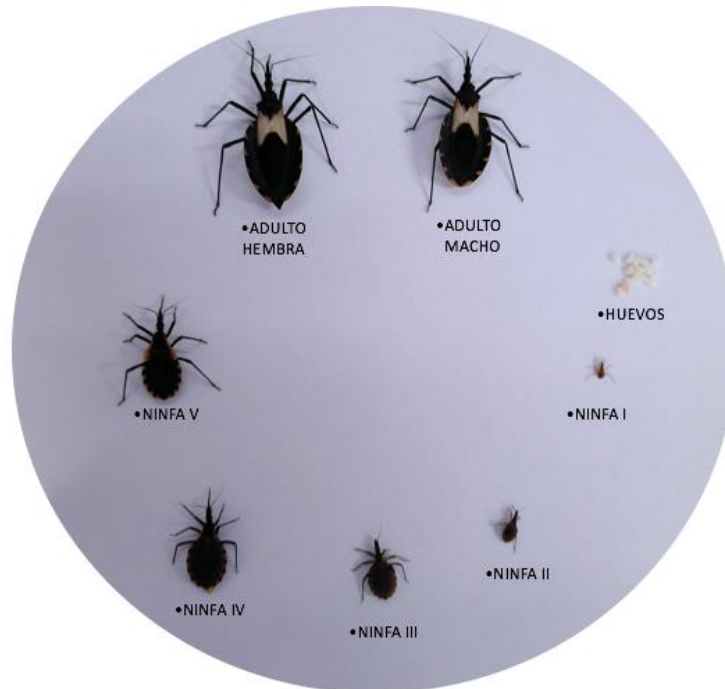
Una de las especies de mayor importancia para Morelos es *T. pallidipennis* reportada por primera vez en Oaxaca, siendo el primer reporte de vector infectado con *T. cruzi* en México (Mazzotti, 1936). *T. pallidipennis* es una especie considerada de importancia médica debido a su capacidad de vivir en ambientes humanos (condición domiciliada) y tener altos porcentajes de infección (Vidal-Acosta et al., 2000). Su distribución abarca el centro y oeste de la República mexicana (Zarate y Zarate, 1985; Carcavallo et al., 1999; Vidal et al., 2000; López et al., 2005; Figura 7) el rango altitudinal que habita de *T. pallidipennis* es de 0-2400 metros (Zavala et al., 2008). Al igual que todas las especies de triatominos, *T. pallidipennis* es hematófaga y necesita de al menos una alimentación para poder mudar a la siguiente etapa de desarrollo (Gutiérrez-Cabrera, 2014). El ciclo de vida de estos insectos (Figura 8) comienza como huevo de color blanco que poco a poco se torna de un color rosado hasta eclosionar a ninfa de primer estadio. Durante su desarrollo, que varía desde cinco meses hasta un año (Dujardin et al., 2002; Noireau et al., 2009) presenta un total de cinco etapas ninfales antes de llegar a adulto. En la etapa de adulto se visualiza un dimorfismo sexual y un par de alas. En condiciones de laboratorio el ciclo de vida de *T. pallidipennis* dura en promedio 308 días y un 8% llega al estadio de adulto, mientras que en condiciones silvestres dura 396 días y sólo 4% llega a pasar de huevo a adulto (Zavala et al., 2008). La hembra en etapa adulta

mide de 32-36 mm y el adulto macho de 28-36 mm (Lent y Wygodzinsky, 1979; Zavala et al., 2008). Dentro de sus hábitos está frecuentar los nidos de aves y madrigueras de pequeños mamíferos (Dujardin et al., 2002; Noireau et al., 2009).

*T. pallidipennis* es considerada responsable de la transmisión de más del 70% de los casos de la EC notificados en la República Mexicana (Martínez-Ibarra et al., 2012) ya que comparada con otras especies es muy susceptible a la infección por *T. cruzi* (Vidal et al., 2000) y es una especie con baja mortalidad, por lo que se potencializa el riesgo de infección (Martínez-Ibarra et al., 2014). Una hembra de *T. pallidipennis* sin estar infectada puede poner en promedio  $2.35 \pm 2$  ( $\pm$ DE) huevos por día con un 87.44% de eclosión (Ibarra et al., 1999; Ibarra et al., 2004; Ibarra et al., 2012; Ibarra et al., 2014) así como una alta tasa de reproducción de 838 huevos en su vida reproductiva (Tay-Zavala et al., 2008) mientras que la supervivencia de los adultos machos oscila entre 27 y 620 días y para las hembras de 34 a 570 días (Martínez-Ibarra y Katthain-Duchateau, 1999).



**Figura 7.** Mapa de distribución de *Triatoma pallidipennis* en la República mexicana. Colima, Estado de México, Guanajuato, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Veracruz y Zacatecas (Lent y Wygodzinsky, 1979; Zarate y Zarate 1985; Salazar Schettino et al., 1988; Carcavallo et al., 1999; Schofeld, 1999; Vidal et al., 2000; López et al., 2005).



**Figura 8.** Ciclo de vida de *T. pallidipennis*, desde huevo, pasando por los cinco estadios ninfales hasta llegar a adulto, con su notable diferencia en tamaño y ovipositor de la hembra.

## 2.7. Respuesta inmune en triatominos

Todos los insectos poseen mecanismos de respuestas innatas que los protegen de agentes patógenos y los triatominos no son la excepción. Las respuestas mediadas por el sistema inmune se dividen en tres: estructural, respuesta celular y respuesta humoral (García-Moreno, 2010). La respuesta inmune estructural la conforma el exoesqueleto, las células epiteliales que recubren órganos como tracto digestivo, túbulos de Malpighi, sistema excretor y sistema reproductivo, además de toxinas que secretan como especies reactivas de nitrógeno (ERN), óxido nítrico (ON) o especies reactivas de oxígeno (ERO), como el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). Después de que los patógenos cruzan la barrera estructural se encuentra la segunda respuesta mediada por hemocitos, conocida como respuesta celular, donde células especializadas llamadas hemocitos encapsulan a los agentes infecciosos con compuestos a base de melanina (Paskewitz y Christensen, 1996). La tercera respuesta es la humoral, donde son sintetizadas moléculas inmunes producidas por las células de tracto digestivo, los hemocitos y el cuerpo graso, activándose las vías Toll, IMD, JNK, Jak-STAT y MAPK. Las moléculas sintetizadas en la respuesta humoral son: **péptidos**

**antimicrobianos** (PAM) las lizoenzimas, el ON, ERO, profenoloxidasa (proPO) y fenoloxidasa (PO), esta última es una enzima clave en la cascada de melanización que también participa en la esclerotización de la cutícula y la cicatrización de heridas (Kenneth Söderhäll, 2013). La proPO y la PO tienen mejor actividad enzimática en triatominos expuestos a temperaturas más altas (González-Rete et al., 2019) y se desencadena tanto a nivel local como sistémico. Está reportado que con el paso del tiempo la PO en la hemolinfa disminuye y depende en gran medida de las condiciones de alimentación del insecto.

Dentro de los PAM en triatominos, se ha reportado a defensina (*def*) inducido por bacterias, principalmente grampositivas (Bulet et al., 1999; Ganz, 2003; López et al., 2003; Vieira et al., 2014), específicamente en *T. pallidipennis* están reportadas la *def 3* y *def 4* (Díaz-Garrido et al., 2016), así como una lisozima tipo-c Tpa1Lys (Martínez et al., 2019). Las *def*, al igual que las lisozimas actúan como agentes protectores que pueden modificar químicamente a los parásitos y otros cuerpos extraños actuando dentro del tracto digestivo de los triatominos (García et al., 2010), por lo que juegan un papel importante en el control de parásitos (Araújo et al., 2006; Waniek et al., 2011; Vieira et al., 2016).

Diversas proteínas presentes en el tracto digestivo del vector están relacionadas con el sistema inmunológico y con vías metabólicas, por ejemplo, gluconeogénesis/glicólisis, metabolismo de ácidos grasos y fosforilación oxidativa (Gumiel et al., 2020). Estudios demuestran que la producción de moléculas del sistema inmune son desencadenadas a partir de la presencia del parásito, lo que sugiere que el insecto modula la población del parásito dentro de él (Viera, 2016). Específicamente, en triatominos el tracto digestivo juega un papel importante como barrera natural contra patógenos externos (Wigglesworth, 1936; García et al., 2010) debido a las proteínas que determinan la interacción de *T. cruzi* con las células epiteliales del insecto. Dichas proteínas participan en los procesos de digestión sanguínea, la absorción de nutrientes, la adhesión de *T. cruzi* a la superficie apical del intestino de la chinche, la replicación del parásito, diferenciación y los mecanismos asociados a la microbiota intestinal (Alves et al., 2007; Nogueira et al., 2007; González et al., 2011, 2013; da Mota et al., 2012; Oliveira et al., 2012; Vieira et al., 2016; Nogueira et al., 2017; Moreira et al., 2018).

### 3. ANTECEDENTES

Los costos y los beneficios que sufren los insectos vectores de enfermedades al estar infectados con alguna especie de parásitos son variados. Factores como la presencia de *T. cruzi*, la temperatura y la humedad influyen en las historias de vida de los triatomíneos (Changyun y Aksoy, 2006, Schaub, 2009; Yassine y Osta, 2010; de Fuentes, 2018). La duración de los diferentes estadios del vector está determinada en gran parte por el acceso de alimento. Entre mayor cantidad de sangre y mayor frecuencia de alimentación tengan los triatomíneos, mayor es su tamaño corporal, su ciclo de vida se acorta y tiene un mayor éxito reproductivo. Sin embargo, existe evidencia de que cuando los triatomíneos se encuentran infectados con *T. cruzi*, se ha reportado un cambio en la composición bacteriana contenida en el tracto digestivo del vector lo que puede retrasar el proceso de muda (Schaub, 1989), el comportamiento y la fisiología del insecto (Botto-Mahan et al., 2006, 2008), dichas modificaciones pueden deberse a la adherencia de *T. cruzi* a la cutícula rectal del vector, lo que puede formar una barrera que evita la absorción de metabolitos necesarios para la digestión (Schaub, 1989). Muchos de los estudios propuestos por diversos autores han arrojado efectos negativos en el desarrollo (Botto-Mahan et al., 2006), fecundidad (Fellet et al., 2014) y supervivencia (Elliot et al., 2015; Hinestroza et al., 2016; Peterson et al., 2016) debido a la presencia de *T. cruzi* (Zeledón et al., 1970; Schaub 1988; Elliot et al., 2015). Por ejemplo, en el caso de *T. pallidipennis* infectada con las cepas Chilpancingo y Morelos, se ha observado una disminución en la supervivencia y un aumento en la tasa de fecundidad y de eclosión del vector, por lo que, sugieren que la chinche prioriza y redirige sus recursos energéticos (Gabino et al., 2019). Dichos cambios biológicos sugieren una conducta adaptativa para el parásito, alterando el fenotipo del hospedador (Poulin, 2010; Gefaell et al., 2016).

De tal manera, es importante considerar el papel que desempeña la microbiota presente en triatomíneos, por ejemplo, diversas especies bacterianas proporcionan vitaminas indispensables para el desarrollo y supervivencia del insecto (Rockstein, 1973; Caracavallo et al., 1985; Nation, 2008). Distintos trabajos han sugerido que los linajes de *T. cruzi* presentes en los triatomíneos, están moldeados por las especies de vectores como el caso de las especies *Triatoma dimidiata*, *R. colombiensis* y *Panstrongylus geniculatus* se encuentran infectadas mayormente por especies de

*T. cruzi* del DTU I ó TcI en comparación con TcII, dos DTU's genéticamente muy diferentes (Justi y Galvão, 2016), se ha sugerido que esta acción de filtro biológico pareciera estar modulada por el efecto de las bacterias en el intestino de los triatominos, las cuales tienen un papel importante en la metacicloogénesis del parásito (Justi y Galvão, 2016).

Existen evidencias de que algunas especies del género *Triatoma* se defienden ante la infección por *T. cruzi*, tal es el caso de *T. pallidipennis* debido a que después de su infección se reduce el número de parásitos en ella (Flores-Villegas et al., 2016). La idea de que los triatominos pueden desarrollar tolerancia a *T. cruzi* aún no se ha probado directamente como es el caso de muchos sistemas animales (Raberg et al., 2008). Esperaríamos que los triatominos se adecuen para reducir el daño causado por el parásito de acuerdo con un escenario de tolerancia. Pero realmente no conocemos que alteraciones produce *T. cruzi* en sus vectores, es decir, cuál es el nivel de afectación o la patogenicidad del parásito sobre el vector (Elliot et al., 2003) sobre todo al existir una diversidad genética de la especie *T. cruzi*.



#### 4. JUSTIFICACIÓN

Los estudios ecológicos sobre los vectores de la enfermedad de Chagas, como el caso particular de *T. pallidipennis*, han mostrado que son organismos susceptibles a cambios en sus historias de vida al estar infectados por *T. cruzi*. A pesar de que se reportan costos para el insectos a consecuencia de la infección por *T. cruzi* no existen reportes donde se aborden los efectos de las co-infecciones por dos o más cepas de *T. cruzi* genéticamente distintas.

## 5. HIPÓTESIS

En ambientes naturales, los triatominos pueden co-existir con más de una cepa de *T. cruzi*. Conociendo la susceptibilidad de *T. pallidipennis* al estar infectada con *T. cruzi*, se esperan mayores costos reflejados a nivel de historias de vida al presentar co-infecciones por distintas cepas de *T. cruzi* de diferente origen genético.

## 6. OBJETIVO GENERAL

Evaluar distintos parámetros de las historias de vida del vector *T. pallidipennis* infectado con cepas de *T. cruzi* genéticamente diferentes.

### 6.1. Objetivos particulares

6.1.1 Evaluar la supervivencia de triatomíneos infectados con una o dos cepas de *T. cruzi*.

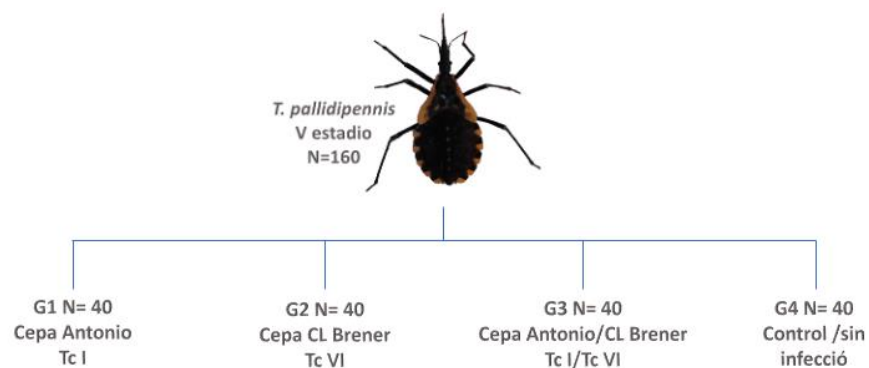
6.1.2 Evaluar si las infecciones múltiples con *T. cruzi* afecta en el periodo de muda de ninfa a adulto en *T. pallidipennis*.

6.1.3 Reportar el número de huevos depositados por los triatomíneos infectados con una o dos cepas de *T. cruzi*.

## 7. MATERIAL Y MÉTODOS

### 7.1 Insectos

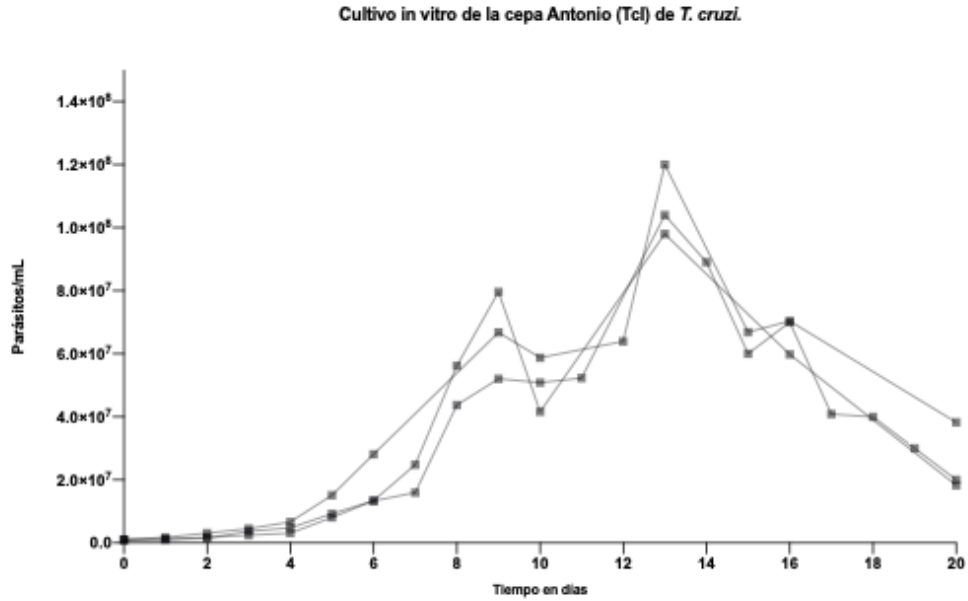
Se utilizaron insectos de la especie *T. pallidipennis* establecidos y mantenidos bajo condiciones controladas de temperatura ( $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) (Azambuja y García, 1997) en el insectario del Instituto Nacional de Salud Pública. Se formaron cuatro grupos de triatominos: grupo uno infectado con la cepa Antonio (TcI); grupo dos infectado con la cepa CL Brener (TcVI), grupo tres coinfectado con la cepa Antonio (TcI) y CL Brener (TcVI); por último, el grupo cuatro sin infección (Figura 9). Cada grupo estuvo conformado por 40 individuos de ninfas V estadio recién mudadas. Posterior a la muda, las chinches se mantuvieron en ayuno de  $30 \pm 5$  días. Una vez cumplido el ayuno, los diferentes grupos recibieron una primera alimentación más la infección con la cepa de *T. cruzi* según le correspondiera (ver sección 7.3). Para cada individuo, se tomó el peso al inicio y al final de la alimentación. Posterior a la alimentación, se midió para cada chinche la supervivencia y el tiempo que tomó para llegar a adulto. Una vez en la etapa adulta, esperamos 15 días post-muda para dar una segunda alimentación, pero en esta ocasión sin el parásito, se formaron parejas de hembra y macho infectados con la misma cepa o con la confección, igualmente para el grupo control. En etapa adulta se midió supervivencia y se contó el número de huevos puesto por cada hembra y el número de huevos ovipositados.



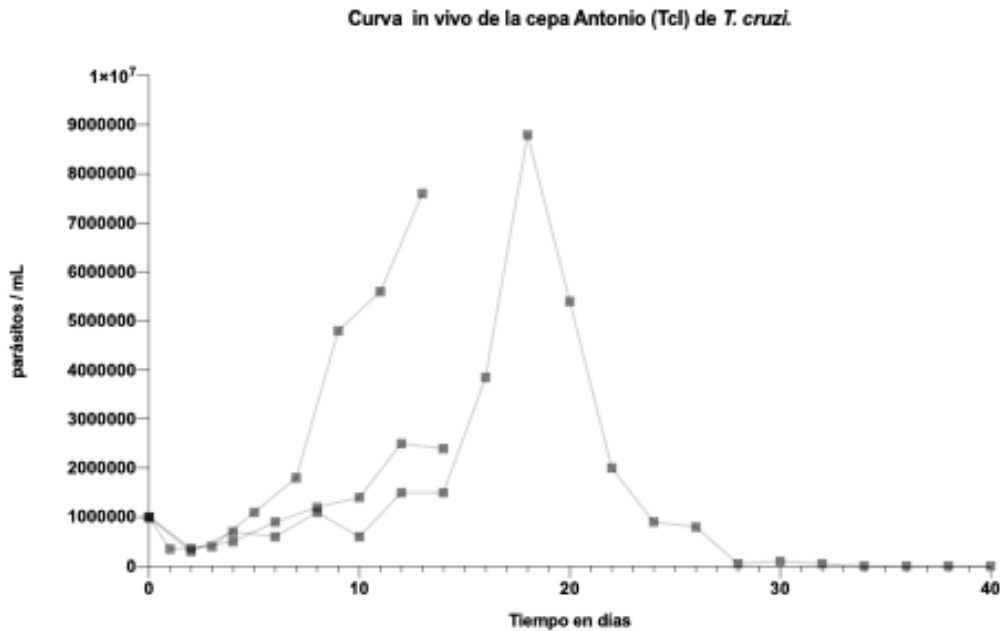
**Figura 9.** Formación de grupos.

## 7.2 Cepas de *T. cruzi* utilizadas en el presente trabajo

Las cepas utilizadas fueron una TcI y una TcVI según la clasificación de Zingales et al. (2012). La cepa TcI (Cepa Antonio) se obtuvo de un insecto *Triatoma phyllosoma* en el municipio Juchitán de Zaragoza, Oaxaca y se encuentra en estudio. Fue donada por el Dr. De Fuentes-Vicente José A. del Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Molecular, Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Con base en los estudios realizados en nuestro laboratorio, se conoce su curva de crecimiento bajo condiciones *in vitro* en medio de crecimiento LIT (Liver Infusion Tryptose), la cual presenta una fase exponencial entre los días 8 y 13 que generalmente disminuye a partir del día 14. (Figura 1). La fase infectiva de esta cepa en triatominos se encuentra alrededor del día  $25 \pm 2$  ( $\pm$ ES). En el modelo murino el **periodo prepatente** es de 1 día y presenta un pico de parasitemia entre el día 15 y 18, en los que puede morir o recuperarse (Figura 1). La cepa TcVI (CL Brener) utilizada en este trabajo es una cepa tipo debido a que es ampliamente utilizada para diversos estudios, esta cepa fue nombrada así en honor al Dr. Zigman Brener, quien originalmente la aisló del vector *Triatoma infestans*, cepa de ciclo doméstico debido a su vector (Brener y Chiari, 1963). La cepa CL Brener en medio de crecimiento LIT presenta un tiempo de duplicación de  $58 \pm 13$  horas (Brener et al., 1976), esta cepa en modelo murino presenta un periodo prepatente de 6 a 7 días, alcanzando el pico de parasitemia al día 15 y muriendo al día 16 (Figura 2). La cepa CL Brener tiene preferencia por las células cardíacas y musculares, además de una fase aguda clara en humanos (Zingales et al., 1997). En triatominos la fase infectiva es generalmente al día  $8 \pm 2$ . La cepa CL Brener fue donada por parte del Instituto Nacional de Cardiología, aislada de humano y mantenida con pases en medio LIT. En la actualidad, ambas cepas se mantienen en el laboratorio de enfermedades transmitidas por vector del Centro de Investigación Sobre Enfermedades Infecciosas del Instituto Nacional de Salud Pública.



**Figura 10.** Curva de crecimiento in vitro de la cepa Antonio (Tcl) en medio LIT (Liver Infusion Tryptose). Conteo por triplicado. Cada gráfica representa el conteo diario de parásitos. Se puede observar que la fase exponencial va del día ocho al día trece  $\pm$ ES debido a que se presenta la mayor cantidad de epimastigotes por mL.



**Figura 11.** Curva de crecimiento *in vivo* de la cepa Antonio (Tcl) en ratón Balb/c. Conteo de tres diferentes ratones cada tercer día iniciando con pase de raton de  $1 \times 10^6$  contenidos en sangre.

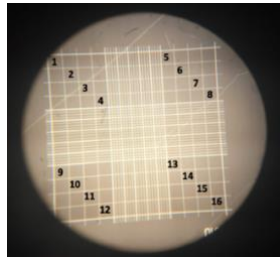
### 7.3 Infección de triatominos con *T. cruzi*

Luego de un ayuno promedio de  $30 \pm 5$  ( $\pm$ DE) días posterior a la muda, se realizó la infección/alimentación de los grupos utilizando el protocolo descrito a continuación (Figura 11).

#### 7.3.1 Preparación de los parásitos

Los parásitos se usaron en estadio de epimastigotes de cultivos **axénicos** y en fase de crecimiento exponencial, fueron mantenidos en medio de crecimiento LIT (Liver Infusion Tryptose) a temperatura ambiente. Para determinar el número de parásitos se usó una cámara de Neubauer contando en los 16 cuadros diagonales como se indica en la Figura 10. Una vez realizado el conteo se calculó el número de parásitos/mL con la siguiente fórmula:

$$\text{parásitos contados} \times 10^{(4)} \times \text{factor de dilución} = \text{parásitos / mL}$$



**Figura 12.** Fotografía de forma de conteo en cámara de Neubauer por microscopia óptica con el lente objetivo de 40x.

Posteriormente los epimastigotes se centrifugaron a 2500 rpm durante 5 min en centrifuga a temperatura ambiente (Eppendorf 5415c, EEUU), el sobrenadante se descartó y la pastilla se reservó para la preparación de la sangre que se utilizó para la alimentación/infección de las chinches.

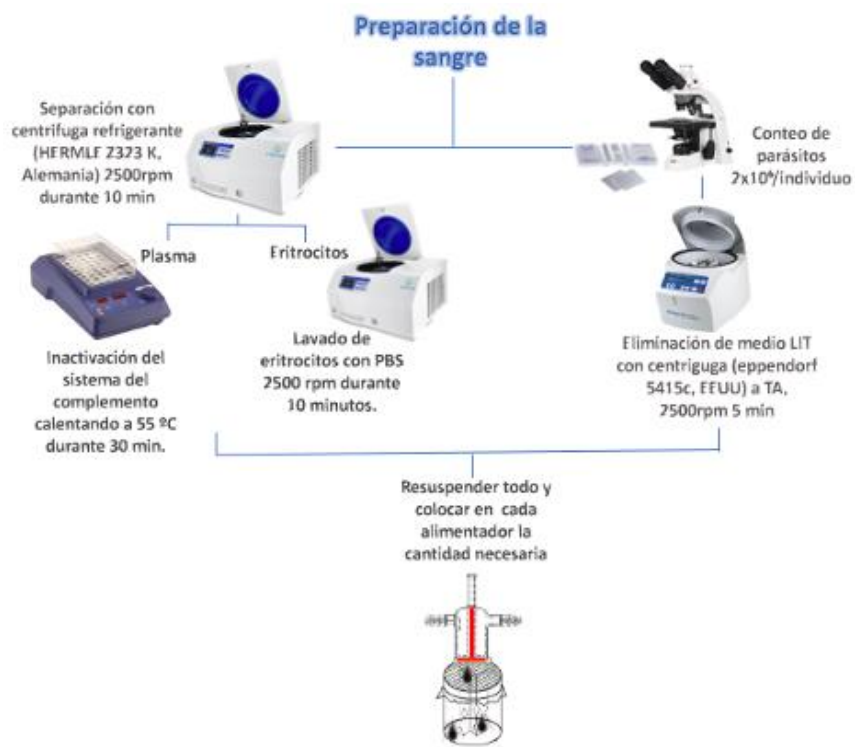
#### 7.3.2 Preparación de la sangre para la alimentación de los triatominos

La sangre obtenida por punción cardiaca de conejos blancos Nueva Zelanda (Instituto Nacional de Salud Pública) fué centrifugada a 2500 rpm durante 10 min en centrifuga refrigerante (HERMLE Z323 K, Alemania) para separar el plasma del hematocrito (Guarneri, 2020). El plasma se colectó de la superficie y fue inactivado a 55°C durante 30 minutos (Vieria et al., 2015). Por otro lado, el botón celular (hematocrito) se lavó una vez con PBS por centrifugación a 2500 rpm durante 10 min

a temperatura ambiente (Guarneri, 2020). Ya inactivado el plasma se dejó atemperar, y se le agregó el botón del hematocrito lavado, indicado previamente. En este último paso se agregaron suavemente los parásitos, a una concentración de  $4 \times 10^6$  parásitos por mL de sangre.

### 7.3.3 Alimentación/infección

Las chinches fueron alimentadas con la sangre que se preparó como se describió previamente. Para ello, la sangre fue colocada con la ayuda de una jeringa en alimentadores artificiales de cristal, que en su base contaban con una membrana de parafilm que pueden picar las chinches fácilmente para succionar la sangre (Figura 11). Para estimular la alimentación de las chinches, los alimentadores se conectaron con mangueras a un recirculador de agua que mantiene una temperatura constante de  $36 \text{ }^\circ\text{C}$ . Cada chinche se procuró alimentar con alrededor de  $500 \mu\text{L}$  de la sangre, lo cual ocurría entre 10 y 90 minutos por chinche.



**Figura 13.** Infección artificial de los triatóminos con *T. cruzi*. Sangre reconstituida por el plasma inactivado, el hematocrito lavado y los parásitos a una concentración de  $4 \times 10^6$ /mL, se depositó en el alimentador artificial el cual se colocó sobre los contenedores con las chinches.



#### 7.4 Medición de rasgos de vida

Como rasgos de vida se consideraron supervivencia, tiempo de muda y número de huevos ovipositados y eclosionados para los diferentes grupos de estudio y el control.

- a. La supervivencia se evaluó anotando diariamente el número de individuos vivos por grupo. Se contó como el día cero la fecha de infección. Cada chinche que murió fue disectada inmediatamente para verificar por microscopía la presencia de *T. cruzi* en su forma de tripomastigote metacíclico.
- b. Se anotó cada número de chinche que fue mudando a adulto, así como a que grupo pertenecía, para poder comparar la muda entre grupos y saber si hubo retraso en la ecdisis.
- c. Para conocer el número total de huevos se fue contando cada huevo puesto por las hembras de los diferentes grupos y se sumó el total por grupos.
- d. De los huevos totales se contó el número de eclosiones a ninfas de primer estadio por grupos.

#### 7.5 Análisis estadísticos

Se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) de una vía para corroborar si existían diferencias en el peso al inicio del experimento. Se realizó una prueba de Shapiro-Wilk's para comprobar la normalidad de los datos. En caso de haber diferencias, se hizo una prueba *post-hoc* de Tukey (ver Figura 14).

La supervivencia se evaluó utilizando el análisis estadístico Kaplan-Meier con prueba Long-Rank (Mantel-cox), este análisis estadístico es ideal para grupos sean menores o mayores de 30, y se conocen los tiempos individuales de los censurados y no censurados, además de ser un método no paramétrico, es decir, que sus datos no tienen una distribución normal, debido a ello se utiliza la prueba Long-Rank (Mantel-cox) que evalúa la probabilidad de que ocurra un suceso en un determinado periodo de tiempo y como se mencionó antes no se requiere distribución normal.

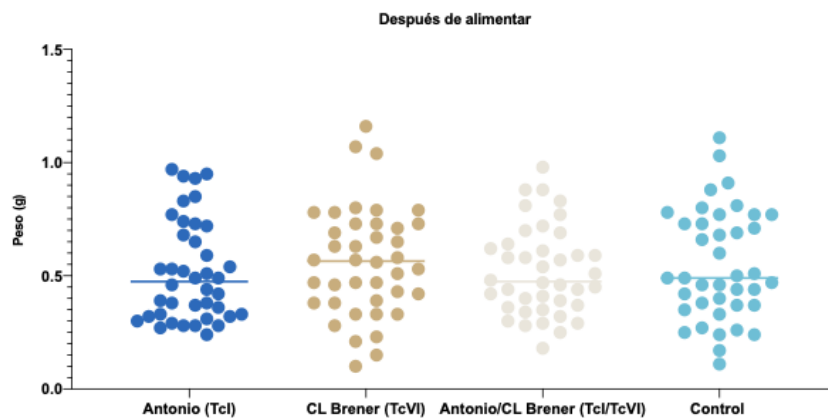
Para poder comparar la eclosión entre grupos se realizó una tabla de contingencia y una prueba  $\chi^2$  para comprobar si es que existen diferencias entre grupos.

Los análisis estadísticos fueron realizados en el software GraphPad Prism 9 (Version 9.0.1).

## 8. RESULTADOS

### 8.1 Peso posterior a la ingesta de sangre para cada grupo

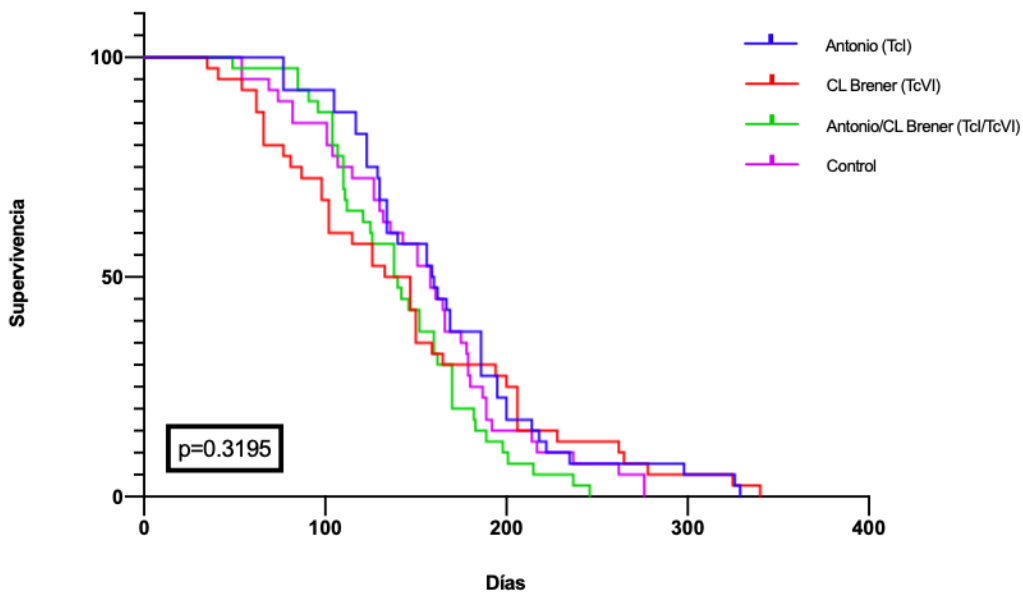
Encontramos que no hubo diferencias significativas entre los grupos experimentales infectados con las cepas (Antonio (Tcl), CL Brener (TcVI), Antonio/CL Brener (Tcl/TcVI) y control (sin infección) ( $F_3= 1.393$ ,  $p > 0.05$ ). Lo anterior nos indica que los triatominos de los diferentes grupos no presentaron diferencias en la cantidad de sangre ingerida, y de forma indirecta en el número de parásitos (Figura 14).



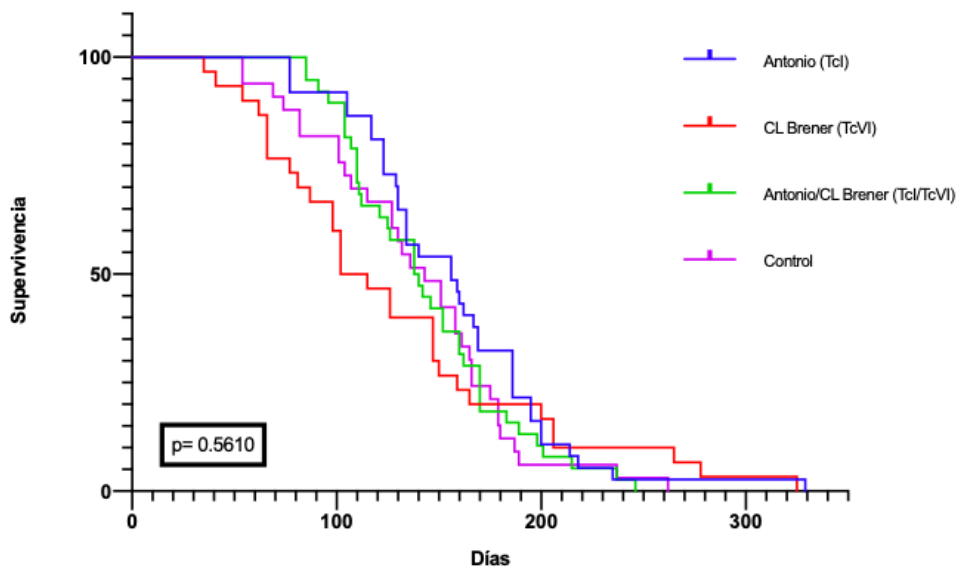
**Figura 14.** Comparación de los pesos entre grupos de *T. pallidipennis* después de la infección donde se observó que no hubo diferencias significativas (ns). Podemos observar cada individuo representado por un punto, de color azul rey el grupo Antonio (Tcl), de color marron el grupo CL Brener (TcVI), de color blanco el grupo con la co-infección y de color azul turquesa el grupo sin infección, representada con una línea se puede observar la media.

### 8.2 Efecto en la supervivencia del insecto

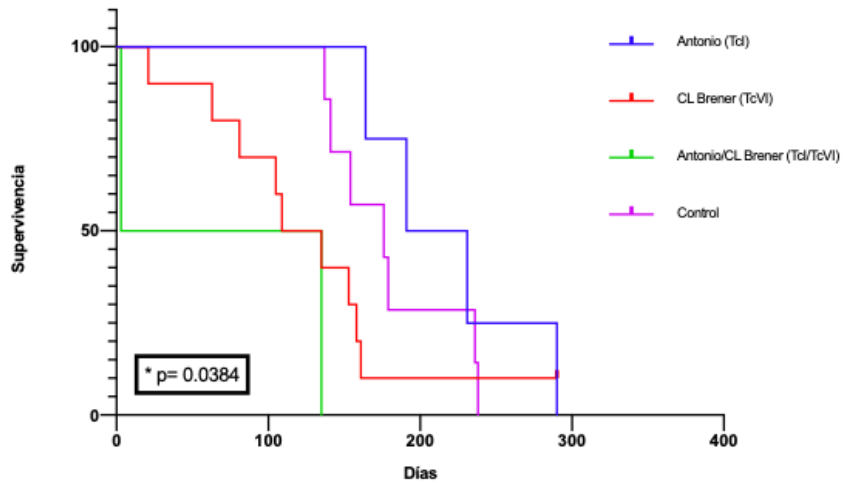
No se observaron diferencias significativas comparando entre grupos, tomando en cuenta ninfas de V estadio, adultos hembra y macho ( $X^2=3.510$ ,  $p>0.05$ )(Figura 15). Por lo que, se sugiere que ninguna de las cepas tuvo algún efecto sobre la supervivencia de los triatominos. Se realizó otra prueba eliminando adultos hembra y macho y se obtuvo el mismo resultado, sin diferencias estadísticas significativas ( $X^2=2.055$ ,  $p>0.05$ ) (Figura 16). Por último, se realizó otro análisis sólo con hembras y machos, eliminando las ninfas de V estadio, aquí si se obtuvieron diferencias significativas ( $X^2= 8.403$ ,  $p<0.05$ )(Figura 17).



**Figura 15.** Supervivencia de los diferentes grupos de *T. pallidipennis*. Podemos observar en azul el grupo infectado con la cepa Antonio (Tcl) en rojo el grupo infectado con la cepa CL Brener (TcVI), de verde el grupo infectado con la cepa Antonio/CL Bener (Tcl/TcVI) y de morado el grupo control (sin infección). No se obtuvieron diferencias significativas en la supervivencia comparando entre grupos  $\chi^2=3.510$ , p-valor=0.3195.



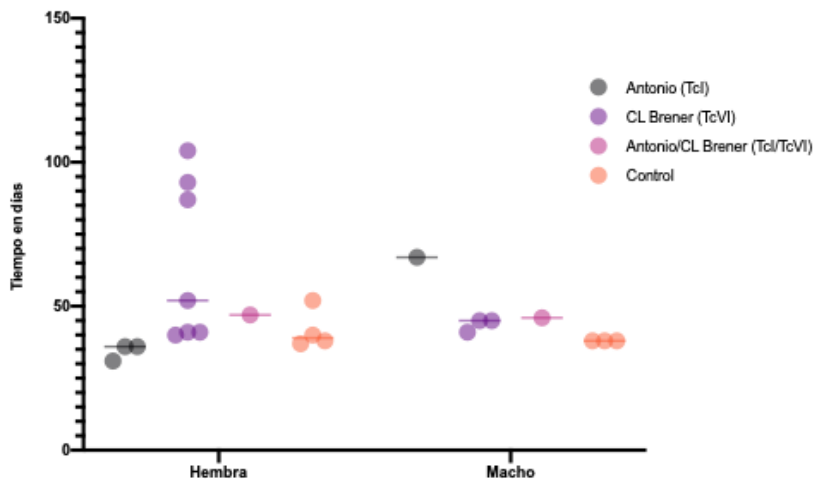
**Figura 16.** Supervivencia de *T. pallidipennis* en ninfas de V estadio eliminando los individuos que mudaron a adulto. Los grupos se representan de la siguiente manera; en azul los infectados con la cepa Antonio (Tcl), en rojo los infectados con la cepa CL Brener (TcVI), en verde con la infección mixta de Antonio/CL Brener (Tcl/TcVI), y en morado el control (sin infección).



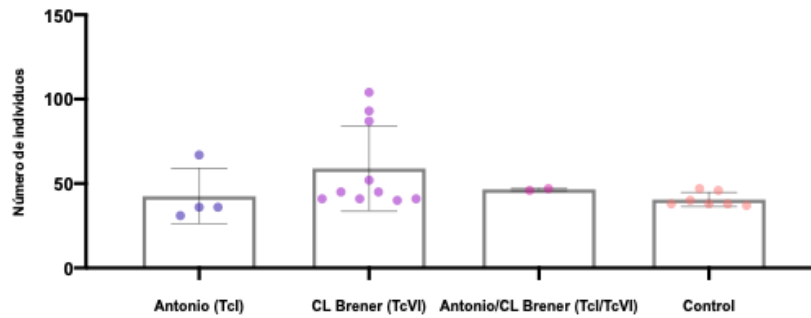
**Figura 17.** Supervivencia de Adultos (hembras y machos) de *T. pallidipennis*. En azul el grupo infectado con la cepa Antonio (Tcl), en rojo el grupo infectado con la cepa CL Brener (TcVI), en verde el grupo infectado con las cepas Antonio/CL Brener (Tcl/TcVI), en morado el grupo sin infección o grupo control.

### 8.3 Efecto sobre la muda

Se evaluó el tiempo de muda de ninfas de V estadio a adultos dentro de cada grupo ( $F_3=0.4052$ ,  $p > 0.05$ ). En la Figura 18, se muestra el tiempo en días que tardaron los insectos en mudar y si fue hembra o macho. Del total de adultos no se encontraron diferencias significativas entre grupos (Figura 19).



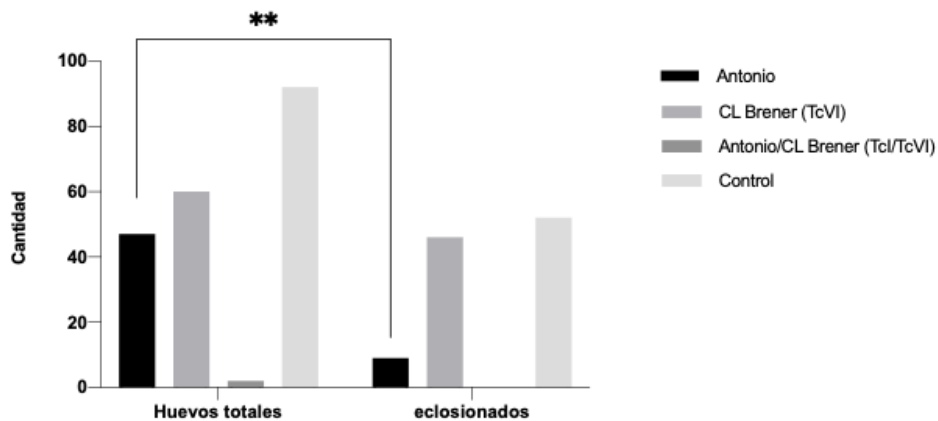
**Figura 18.** Ecdisis de ninfas de V a adultos de *T. pallidipennis*. Representado de la siguiente manera: En color gris los adultos (hembra y macho) del grupo infectado con la cepa Antonio (Tcl), de color morado los adultos (hembra y macho) del grupo infectado con la cepa CL Brener (TcVI), en color rosa los adultos (hembra y macho) con la infección mixta de Antonio/CL Brener (Tcl/TcVI) y en color melón el grupo sin infectar.



**Figura 19.** Número de individuos en porcentaje del total de hembras y machos de *T.pallidipennis* que mudaron de cada grupo.

#### 8.4 Efecto sobre el éxito reproductivo

Del total de huevos ovipositados para cada grupo se obtuvo el número de huevos que eclosionaron a ninfa de primer estadio. Los resultados mostraron diferencias significativas ( $X^2=13.30$ ,  $p < 0.05$ ) en los huevos eclosionados por el grupo infectado por la cepa Antonio (Tcl) con respecto a los otros grupos debido a que eclosionaron menos huevos de los esperados.



**Figura 20.** Número de huevos totales y número de huevos que eclosionaron de cada grupo. En la gráfica se puede observar que el número de los huevos de *T.pallidipennis* que eclosionaron a ninfa de primer estadio fueron menos de los esperados para el grupo Antonio (Tcl), en comparación con los otros tres grupos. (\*\*)diferencia entre el número de huevos totales y el número de huevos que eclosionaron con respecto a los otros grupos.

## 9. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos no mostraron diferencias significativas en los parámetros de las historias de vida evaluados de *T. pallidipennis*, contrario a los resultados obtenidos en diversos estudios donde generalmente se encuentra que las infecciones por *T. cruzi* afectan negativamente al vector (Botto-Mahan, 2009; Fellet et al., 2014; Cordero-Montoya et al., 2019). En el caso de los triatominos, cuando no existen costos por la interacción de *T. cruzi* y el vector, se sugiere que es debida a la poca o falta de patogenicidad de *T. cruzi* dentro del vector (Zeledón, 1970; Schaub, 1989) o bien, que el rasgo afectado no está dentro de los parámetros que se evaluaron. Otro factor importante que afecta de diferentes maneras las historias de vida de los insectos vectores de la EC es sin duda la falta de nutrientes (Gutiérrez-Cabrera et al., 2020).

Wigglesworth (1954) mostró en los triatominos del género *Rhodnius*, que la alimentación, puede activar diversos receptores de las paredes del estómago de la chinche, que a su vez mandan señales al cerebro. Dicha intercomunicación en el cerebro de la chinche genera la secreción de hormonas que estimulan a las glándulas protorácicas para la liberación de ecdisona (hormona encargada del proceso de muda). De tal manera, la falta de alimento en el vector puede prolongar el tiempo de muda de este (Botto-Mahan et al., 2008; Elliot et al., 2015) como consecuencia del descontrol de la homeostasis intestinal por la falta de metabolitos derivados de la digestión (Schroeder et al., 2008; Marinho et al., 2014; Van der Knaap y Verrijzer, 2016; Cohen et al., 2017). Con base en lo anterior, proponemos que la falta de alimento a la que se sometieron los insectos influyó en los resultados, debido a la aparente falta de costos. Es decir, que al recibir una sola alimentación el parásito no pudo seguirse replicando y por lo tanto no se obtuvo un efecto más visible en las historias de vida del vector, además de que afectó a la ecdisis de quinto estadio a adulto. Dicha falta de costos para los triatominos infectados con una cepa o dos de *T. cruzi*, también ha sido observado por otros autores como Zeledón (1970), y Schaub (1988). Los resultados los justifican que la ingesta de sangre promueve la metacicloogénesis, por lo que el estar en ayuno disminuye la densidad poblacional de *T. cruzi* (Kollien y Schaub, 2000).

Como puede observarse en las Figuras 15 y 16, en los primeros 100 días de ayuno a partir de su infección comenzaba a notarse mayor cantidad de individuos muertos infectados con la cepa

CL Brener (TcVI) con respecto al control, y una mayor supervivencia de los individuos infectados con la cepa Antonio (Tcl) y de los individuos infectados con ambas cepas Antonio y CL Brener (Tcl/TcVI) con respecto al control, que conforme aumentó el ayuno se fue uniformando hasta no obtener diferencias estadísticas. Zavala (2008) observó que un triatomino infectado puede vivir hasta 250 días sin volver a alimentarse, mientras que en nuestros resultados algunas *T. pallidipennis* sobrevivieron más de 300 días sin alimentarse. También cabe la posibilidad de que las cepas de *T. cruzi* usadas, Antonio (Tcl) y CL Brener (TcVI) no sean lo suficientemente virulentas (Schaub, 1989), o que no encuentren un hospedero ideal en *T. pallidipennis* o bien que *T. pallidipennis* se monte una respuesta inmune exitosa ante la infección por *T. cruzi* como en el caso del aislado ITRI / MX / 12 / MOR (Flores-Villegas et al., 2016). Dicha respuesta inmunológica puede ser una respuesta adaptativa que beneficia al hospedador.

Un estudio de Carvalho-Moreira (2003) en el que infectaron chinches del género *Triatoma* y *Rhodnius* mostró una mayor cantidad de tripomastigotes metacíclicos en *Rhodnius*, de esta forma se cree que el vector modula la virulencia de las cepas (Lammel, 1985; Macedo et al., 2004). Autores como García y Dvorak (1982) así como Perlowagora y Moreira (1994), mencionan que la susceptibilidad de los insectos vectores a *T. cruzi*, está influenciada por el nivel adaptativo de una cepa del parásito para desarrollarse más fácilmente en una especie de triatomino que, en otras. Esto podría explicar la falta de costos, ya que ambas cepas Antonio (Tcl) y CL Brener (TcVI) no fueron naturalmente aisladas de *T. pallidipennis*, en cambio solo completaron su ciclo de vida en el vector.

En los resultados donde si se observó un efecto por la infección de *T. cruzi* en *T. pallidipennis* fue en la eclosión para el grupo infectado con la cepa Antonio (Tcl), donde el número de huevos eclosionados no fue el esperado en comparación con los diferentes grupos experimentales. A partir de ese dato se sugiere que existe un efecto negativo para este grupo en la adecuación. La importancia de ver el efecto de más de una cepa dentro del vector, como ocurre normalmente en vida silvestre, es que también puede existir una competencia entre las variantes de *T. cruzi*, en este caso Tcl y TcVI, lo que puede ser otra razón de la falta de costos en el vector, o bien predominar la cepa que logra completar su ciclo dentro del vector, lo que, como antes se mencionó beneficia al parásito sin afectar al vector aparentemente. Sin embargo, al no afectar al vector, lo vuelve un



problema de salud al elevar la probabilidad de transmisión del parásito por coprofagia en el mismo vector y por transmisión al hospedero vertebrado.

## 10. CONCLUSIONES

- 10.1 La muerte de los grupos no varió significativamente patogenicidad de las cepas Antonio (Tcl) y CL Brener (TcVI), debido probablemente a la baja patogenicidad de las cepas.
- 10.2 Observamos un efecto negativo en el número de eclosiones del grupo infectado con la cepa Antonio (Tcl), debido a que el número fue menor de lo esperado con respecto a los otros grupos.
- 10.3 Creemos que el factor que más influyó en los resultados fue la alimentación, ya que recibieron sólo una, por lo que pudo afectar la proliferación de los parásitos, además de que se ha visto que en algunas ocasiones es necesaria más de una alimentación para la ecdisis del vector.
- 10.4 Es importante que se siga aportando más conocimientos acerca de la biología del vector de la EC, así como evaluar al mismo tiempo diferentes rasgos de sus historias de vida, estudiar la diversidad genética que existe en las cepas de *T. cruzi* dentro del vector y las interacciones con sus hospederos vertebrados.

## 11. PERSPECTIVAS

- 11.1 Medir respuesta inmune en cuerpo graso y tracto digestivo de *T. pallidipennis* mediante la expresión de PAMs en triatomíneos infectados y Co-infectados con la DTUs TcI y TcVI de *T. cruzi*.
- 11.2 Cuantificar los DTUs TcI y TcVI de *T. cruzi*, presentes en la ampolla rectal de *T. pallidipennis*.
- 11.3 Tratar de emplear técnicas moleculares para identificar la cepa de *T. cruzi* abundante en *T. pallidipennis*.

## REFERENCIAS

- Ademola, I. O., y Odeniran, P. O. (2016). Co-infection with *Plasmodium berghei* and *Trypanosoma brucei* increases severity of malaria and trypanosomiasis in mice. *Acta tropica*, 159, 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.03.030>.
- Botto-Mahan, C., Cattan P., y Medel R. (2006). *Chagas disease parasite induces behavioural changes in the kissing bug Mepraia spinolai*. *Acta Tropica*, 98, 3, 219-223. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2006.05.005>.
- Brener, Z., y Chiari, E. (1965). Aspects of early growth of different *Trypanosoma cruzi* strains in culture medium. *The Journal of Parasitology*, 51(6), 922–926. [http://www.jstor.org/stable/3275869?seq=1&cid=pdf-reference#references\\_tab\\_contents](http://www.jstor.org/stable/3275869?seq=1&cid=pdf-reference#references_tab_contents).
- Brener, Z. (1987). Pathogenesis and Immunopathology of Chronic Chagas disease. In meeting on Immunopathology and pathogenesis of Chagas' disease, Leishmaniasis and Leprosy. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 82 205-213. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761987000500004>.
- Carrada-Bravo, T. (2004). *Trypanosoma cruzi*: Historia natural y diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Rev Mex Patol Clin Med Lab*. 51(4), 205-219.
- Cesaretto, N.R., de Oliveira, J., Ravazi, A. *et al.* (2021). Trends in taxonomy of *Triatomini* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae): reproductive compatibility reinforces the synonymization of *Meccus* Stål, 1859 with *Triatoma* Laporte, 1832. *Parasites Vectors* 14, 340 <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04847-7>.
- Ciota, A. T., Styer, L. M., Meola, M. A., y Kramer, L. D. (2011). *The costs of infection and resistance as determinants of West Nile virus susceptibility in Culex mosquitoes*. *BMC Ecology*, 11(1), 23-31. <https://doi.org/10.1186/1472-6785-11-23>.
- Cordero-Montoya, G., Flores-Villegas, A. L., Salazar-Schettino, P. M., Vences-Blanco, M. O., Rocha-Ortega, M., Gutiérrez-Cabrera, A. E., Rojas-Ortega, E., y Córdoba-Aguilar, A. (2019). The cost of being a killer's accomplice: *Trypanosoma cruzi* impairs the fitness of kissing bugs. *Parasitology research*, 118(9), 2523–2529. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06413-8>.
- Cruz-Reyes, A., y Pickering-López, J. M. (2006). Chagas disease in Mexico: an analysis of geographical distribution during the past 76 years--a review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101(4), 345–354. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762006000400001>.
- da Cruz Moreira, O., y Ramirez, J. C. (2019). Genotyping of *Trypanosoma cruzi* from Clinical Samples by Multilocus Conventional PCR. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 1955, 227–238. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9148-8\\_17](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9148-8_17).
- de Fuentes-Vicente, J. A., Gutiérrez-Cabrera, A. E., Flores-Villegas, A. L., Lowenberger, C., Benelli, G., Salazar-Schettino, P. M., Córdoba-Aguilar, A. (2018). What makes an effective Chagas disease vector? Factors underlying *Trypanosoma cruzi*-triatomine interactions. *Acta Tropica*, 183, 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.04.008>.

- Díaz-Garrido, P., Sepúlveda-Robles, O., Martínez-Martínez, I., y Espinoza, B. (2018). Variability of defensin genes from a Mexican endemic Triatominae: *Triatoma (Meccus) pallidipennis* (Hemiptera: Reduviidae). *Bioscience reports*, 38(5), BSR20180988. <https://doi.org/10.1042/BSR20180988>.
- Elliot S.L., Rodrigues J.O., Lorenzo M.G., Martins-Filho O.A., Guarneri A. (2015) *Trypanosoma cruzi*, Etiological Agent of Chagas Disease, Is Virulent to Its Triatomine Vector *Rhodnius prolixus* in a Temperature-Dependent Manner. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 9(3): e0003646. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003646>.
- Espinoza, B., Rico, T., Sosa, S., Oaxaca, E., Vizcaino-Castillo, A., Caballero, M. L., & Martínez, I. (2010). Mexican *Trypanosoma cruzi* (Tcl) strains with different degrees of virulence induce diverse humoral and cellular immune responses in a murine experimental infection model. *Journal of biomedicine and biotechnology*, 2010, 890672. <https://doi.org/10.1155/2010/890672>.
- Fellet M.R., Lorenzo M.G., Elliot S.L., Carrasco D., Guarneri A.A. (2014) Effects of Infection by *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* on the Reproductive Performance of the Vector *Rhodnius prolixus*. *PLoS ONE* 9(8): e105255. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105255>.
- Flores-Villegas, A. L., Cabrera-Bravo, M., Toriello, C., Bucio-Torres, M. I., Salazar-Schettino, P. M., y Córdoba-Aguilar, A. (2016). Survival and immune response of the Chagas vector *Meccus pallidipennis* (Hemiptera: Reduviidae) against two entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Isaria fumosorosea*. *Parasites & vectors*, 9, 176. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1453-1>.
- González-Rete, B., Salazar-Schettino, P. M., Bucio-Torres, M. I., Córdoba-Aguilar, A., y Cabrera-Bravo, M. (2019). Activity of the prophenoloxidase system and survival of triatomines infected with different *Trypanosoma cruzi* strains under different temperatures: understanding Chagas disease in the face of climate change. *Parasites & Vectors*, 12(1):219-231. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3477-9>.
- Guarneri, A. A., Diotaiuti, L., Gontijo, N. F., Gontijo, A. F., & Pereira, M. H. (2000). Comparison of feeding behaviour of *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis* and *Triatoma pseudomaculata* in different hosts by electronic monitoring of the cibarial pump. *Journal of insect physiology*, 46(7), 1121–1127. [https://doi.org/10.1016/s0022-1910\(99\)00222-x](https://doi.org/10.1016/s0022-1910(99)00222-x).
- Gutiérrez-Cabrera, A. E., Alexandre-Aguilar, R., Hernández-Martínez, S., y Espinoza, B. (2014). Development and glycoprotein composition of the perimicrovillar membrane in *Triatoma (Meccus) pallidipennis* (Hemiptera: Reduviidae). *Arthropod structure & development*, 43(6), 571–578. <https://doi.org/10.1016/j.asd.2014.07.001>.
- Henriques, C., Castro, D. P., Gomes, L. H., Garcia, E. S., y de Souza, W. (2012). Bioluminescent imaging of *Trypanosoma cruzi* infection in *Rhodnius prolixus*. *Parasites & vectors*, 5, 214. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-214>.
- Hurd H. (1990). Physiological and behavioural interactions between parasites and invertebrate hosts. *Advances in parasitology*, 29, 271–318. [https://doi.org/10.1016/s0065-308x\(08\)60108-6](https://doi.org/10.1016/s0065-308x(08)60108-6).

- Justi S. A., Galvão C. (2017). The evolutionary origin of diversity in Chagas disease vectors. *Trends Parasitol* ; 33(1) :11. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2016.11.002>.
- Justi, S.A., Russo, C.A.M., Mallet, J.R.d.S. *et al.* Molecular phylogeny of Triatomini (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Parasites Vectors* 7, 149 (2014). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-149>.
- Kipnis, T. L., Calich, V. L., y da Silva, W. D. (1979). Active entry of bloodstream forms of *Trypanosoma cruzi* into macrophages. *Parasitology*, 78(1), 89–98. <https://doi.org/10.1017/s0031182000048617>.
- Kolliien, A. H., & Schaub, G. A. (2000). The development of *Trypanosoma cruzi* in triatominae. *Parasitology today (Personal ed.)*, 16(9), 381–387. [https://doi.org/10.1016/s0169-4758\(00\)01724-5](https://doi.org/10.1016/s0169-4758(00)01724-5).
- Martínez-Ibarra, J.A., Noguera-Torres, B., García-Benavidez, G., Vargas-Llamas, V., Bustos-Saldaña, R. and Montañez-Valdez, O.D. (2012), Bionomics of populations of *Meccus pallidipennis* (Stål), 1872 (Hemiptera: Reduviidae) from Mexico. *Journal of Vector Ecology*, 37: 474-477. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2012.00255.x>.
- Martínez-Ibarra, J. A., y Katthain-Duchateau, G. (1999). Biology of *Triatoma pallidipennis* stal 1945 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) under laboratory conditions. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94(6), 837–839. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761999000600023>.
- Menu, F., Ginoux, M., Rajon, E., Lazzari, C. R. y Rabinovich, J.E. (2010) Adaptive Developmental Delay in Chagas Disease Vectors: An Evolutionary Ecology Approach. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 4(5): e691. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000691>.
- Monje-Rumi, M. M., Brandán, C. P., Ragone, P. G., Tomasini, N., Lauthier, J. J., Alberti D'Amato, A. M., Cimino, R. O., Orellana, V., Basombrío, M. A., y Diosque, P. (2015). *Trypanosoma cruzi* diversity in the Gran Chaco: mixed infections and differential host distribution of TcV and TcVI. *Infection, genetics, and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 29, 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.11.001>.
- Montiel, G. y Díaz, G. (2002). Respuesta inmune de las células del hospedero a la infección por *Trypanosoma cruzi*. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera*, 37(1-2), 57-63. Retrieved September 08, 2021, from [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1017-85462002000100009&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85462002000100009&lng=en&tlng=es).
- Nee, S., & Smith, J. M. (1990). The evolutionary biology of molecular parasites. *Parasitology*, 100 Suppl, S5–S18. <https://doi.org/10.1017/s0031182000072978>.
- Paláu, M. T. (2000). Relación hospedero-parásito *Trypanosoma cruzi*. *Revista MVZ Córdoba*, 5(1),33-37. ISSN: 0122-0268. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69350107>.
- Pereira, C. A., Carrillo, C., Miranda, M. R., Bouvier, L. A., y Cánepa, G. E. (2008). *Trypanosoma cruzi*: transport of essential metabolites acquired from the host. *Medicina*, 68(5), 398–404. [http://www.medicinabuenaaires.com/revistas/vol68-08/5/v68\\_n5\\_p398\\_404.pdf](http://www.medicinabuenaaires.com/revistas/vol68-08/5/v68_n5_p398_404.pdf).
- Pérez España, V. H., Morales Evangelista, C. L., Vázquez Chagoyán, J. C., Valladares Carranza, B., Romero Cortés, T.,

- Cuervo Parra, J. A., Martínez Hernández, I., Noguez García, J. C., y Aparicio Burgos, J. E. (2019). Molecular characterization of *Trypanosoma cruzi* isolates from the triatomines collected in the municipalities of the State of Hidalgo, Mexico. *Nova scientia*, 11(22), 171-185. <https://doi.org/10.21640/ns.v11i22.1759>.
- Pinto, P. L., Takami, R., Nunes, E. V., Guilherme, C. S., Oliveira, O. C., Jr, Gama-Rodrigues, J., y Okumura, M. (1999). Life cycle of *Trypanosoma cruzi* (Y strain) in mice. *Revista do Hospital das Clinicas*, 54(5), 141–146. <https://doi.org/10.1590/s0041-87811999000500002>.
- Pollevick, G. D. (1993). Estructura, organización y expresión de los genes que codifican la trans-sialidasa de *trypanosoma cruzi*. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_2597\\_Pollevick.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2597_Pollevick.pdf).
- Poulin, R. (1995). “Adaptive” changes in the behaviour of parasitized animals: A critical review, *International Journal for Parasitology*, 25(12), 1371-1383 [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(95\)00100-X](https://doi.org/10.1016/0020-7519(95)00100-X).
- Poulin, R., y Thomas, F. (1999). Phenotypic variability induced by parasites. *Parasitology today (Personal ed.)*, 15(1), 28–32. [https://doi.org/10.1016/s0169-4758\(98\)01357-x](https://doi.org/10.1016/s0169-4758(98)01357-x).
- Rico-Hernández, G. (2011). The evolution of host-parasite interactions: coevolution, sexual selection, and other suggested theories. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 14(2), 119–130. <https://doi.org/10.31910/rudca.v14.n2.2011.782>.
- Rodríguez Diego, J. G., Olivares, J. L., Arece, J., y Roque E. (2009). Evolución de los parásitos: consideraciones generales. *Revista de Salud Animal*. 31 (1), 13-17. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-570X2009000100003&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2009000100003&lng=es&tlng=es).
- Salazar-Schettino, P. M., Rojas-Wastavino, G. E., Cabrera-Bravo, M., Bucio-Torres, M. I., Martínez Ibarra, J. A., Monroy Escobar, M. C., Rodas Retana, A., Guevara Gómez, Y., Vences Blanco, M. O., Ruiz Hernández, A. L., y Torres Gutiérrez, E. (2010). A revision of thirteen species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) vectors of Chagas disease in Mexico. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 1(1), 57-81. [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2072-92942010000100007&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2072-92942010000100007&lng=es&tlng=es).
- Schaub G. A. (1992). The effects of trypanosomatids on insects. *Advances in parasitology*, 31, 255–319. [https://doi.org/10.1016/s0065-308x\(08\)60023-8](https://doi.org/10.1016/s0065-308x(08)60023-8).
- Schaub, G. A., y Lösch, P. (1988). *Trypanosoma cruzi*: origin of metacyclic trypomastigotes in the urine of the vector *Triatoma infestans*. *Experimental parasitology*, 65(2), 174–186. [https://doi.org/10.1016/0014-4894\(88\)90121-x](https://doi.org/10.1016/0014-4894(88)90121-x).
- Schaub G. A. (2021). An Update on the Knowledge of Parasite-Vector Interactions of Chagas Disease. *Research and reports in tropical medicine*, 12, 63–76. <https://doi.org/10.2147/RRTM.S274681>.
- Souto, R. P., Fernandes, O., Macedo, A. M., Campbell, D. A., & Zingales, B. (1996). DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. *Molecular and biochemical parasitology*, 83(2), 141–152. [https://doi.org/10.1016/s0166-6851\(96\)02755-7](https://doi.org/10.1016/s0166-6851(96)02755-7).

- Tay-Zavala, J., Sánchez, V. J., Calderón, R. L., Romero-Cabello, R., Ruiz-Sánchez, D., García-Tay, J. A. (2008). Estudios del ciclo biológico de *Triatoma pallidipennis* (Stat 1872) y otros aspectos sobre su biología. 51(2), 56-59. <https://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2008/un082d.pdf>.
- Trey, B., Junqueira, C., Rodrigues-Luiz, G., Valente, B., Oliveira, A., Polidoro, R., Zuccherato, L., Bartholomeu, D., Schenkman, S., Gazzinelli, R., Burleigh, B., El-Sayed, N., Teixeira, S. (2017). Comparative transcriptome profiling of virulent and non-virulent *Trypanosoma cruzi* underlines the role of surface proteins during infection. *Plos Pathogens*. 13(12): e1006767. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006767>.
- Pérez-España, Víctor H., Morales-Evangelista, Claudia L., Vázquez-Chagoyán, J. C., Valladares Carranza, B., Romero Cortés, T., Cuervo-Parra, J.A., Martínez-Hernández, I., Noguez García, J. C., y Aparicio Burgos, J. E. (2019). Caracterización molecular de aislados de *Trypanosoma cruzi* de triatomíneos recolectados en los municipios del Estado de Hidalgo, México. *Nova scientia*, 11(22), 171-185. <https://doi.org/10.21640/ns.v11i22.1759>.
- Vieira, C.S., Waniek, P.J., Mattos, D.P. et al. (2014). Humoral responses in *Rhodnius prolixus*: bacterial feeding induces differential patterns of antibacterial activity and enhances mRNA levels of antimicrobial peptides in the midgut. *Parasites Vectors* 7, 232. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-232>.
- World Health Organization, (2019). Global. Chagas disease fact sheet: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)).
- Zingales, B., Pereira, M. E., Almeida, K. A., Umezawa, E. S., Nehme, N. S., Oliveira, R. P., Macedo, A., y Souto, R. P. (1997). Biological parameters and molecular markers of clone CL Brener--the reference organism of the *Trypanosoma cruzi* genome project. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92(6), 811-814. <https://doi.org/10.1590/s0074-02761997000600016>.
- Zingales, Bianca. (2018). *Trypanosoma cruzi* genetic diversity: Something new for something known about Chagas disease manifestations, serodiagnosis and drug sensitivity. *Acta Trópica*. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.09.017>.