

Tasa de infección y tiempo de defecación de los estadios ninfales de *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) después de la infección experimental con *Trypanosoma cruzi*

José Antonio De Fuentes-Vicente, Dolores Guadalupe Vidal-López, Javier Gutiérrez-Jiménez, María-Adelina Schlie-Guzmán

Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas

RESUMEN

Introducción. El parásito *Trypanosoma cruzi* es el agente etiológico de la enfermedad de Chagas. Su transmisión es a través de insectos de la subfamilia *Triatominae*, donde *Triatoma dimidiata* es uno de los vectores principales en México y Centro América. La transmisión del parásito depende de factores como la tasa de infección de las distintas especies y el tiempo de defecación después de la alimentación.

Objetivo. Evaluar la infección con *T. cruzi* en los cinco estadios de *T. dimidiata* y determinar el tiempo de defecación postprandial.

Material y métodos. Treinta individuos de cada estadio de *T. dimidiata* fueron alimentados con sangre infectada con *T. cruzi*. Se llevó a cabo una segunda alimentación 20 días posteriores para evaluar la presencia del parásito en las heces y medir el tiempo de defecación postprandial.

Resultados. El número total de ejemplares infectados con *T. cruzi* fue de 99 (66 %). No se encontraron diferencias significativas en la tasa de infección por estadio ninfal ($p > 0.05$). El tiempo de defecación fue menor en los individuos del quinto estadio en relación a los otros grupos ($p < 0.05$).

Conclusiones. Todos los estadios de *T. dimidiata*

se infectaron con *T. cruzi*, considerando al quinto instar como un mejor vector del parásito en condiciones de laboratorio.

Palabras clave: *Triatoma dimidiata*, estadios, *Trypanosoma cruzi*, infección, defecación.

ABSTRACT

Infection rate and time of defecation of the nymphal stages of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) after experimental infection with *Trypanosoma cruzi*

Introduction. *Trypanosoma cruzi* is the etiologic agent of Chagas disease. Transmission is through insects of the *Triatominae* subfamily, where *Triatoma dimidiata* is one of the main vectors in Mexico and Central America. This parasite transmission depends on factors such as the infection rate of the vector and its defecation time after feeding.

Aim. Evaluate the ability of five nymphal stages of *T. dimidiata* to cause infection of *T. cruzi* and determine the postprandial defecation time.

Material and methods. Thirty individuals of each stage of *T. dimidiata* were fed with blood infected with *T. cruzi*. A second feed was carried out after 20 days to evaluate the presence of the

Autor para correspondencia: José Antonio De Fuentes Vicente. Libramiento Norte-Poniente #1150 col. Lajas Maciel. Código Postal 29039. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. **E-mail:** josedefuentes@comunidad.unam.mx

Recibido: el 14 de marzo de 2016 **Aceptado para publicación:** el 20 de mayo de 2016

Este documento está disponible en <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb162732.pdf>

parasite in the feces and timing of postprandial defecation.

Results. The total number of individuals infected with *T. cruzi* was 99 (66 %). Differences statistically significant were not found among the nymphal stages ($p > 0.05$). Defecation time was lower in individuals of the fifth stage with difference statistically significant ($p < 0.05$).

Conclusions. All stages of *T. dimidiata* were infected with *T. cruzi*, being the fifth stage the better vector in laboratory conditions.

Key words: *Triatoma dimidiata*, stages, *Trypanosoma cruzi*, infection, defecation.

INTRODUCCION

La Tripanosomiasis Americana, también conocida como enfermedad de Chagas, es una infección parasitaria endémica del continente americano, la cual se encuentra dentro de las 13 enfermedades tropicales desatendidas en el mundo (1). De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (WHO; por sus siglas en inglés) se estima una prevalencia de alrededor de 6-7 millones de personas infectadas en el mundo y por lo menos 25 millones se encuentran en riesgo de contraer la enfermedad (2). El agente etiológico de este padecimiento es el protozoario hemoflagelado *T. cruzi* (*Kinetoplastida: Trypanosomatidae*) (3), parásito que circula en más de 150 especies de mamíferos y es transmitido por las heces de insectos hematófagos de la subfamilia Triatominae (*Hemiptera; Reduviidae*) conocidos popularmente como chinches, chinche besucona, vinchucas, entre otras (4-5).

Se han descrito alrededor de 136 especies de triatominos y más de la mitad se han encontrado infectados naturalmente con *T. cruzi* (6). En México, hay reportadas 32 especies (7), dentro de las cuales *T. dimidiata* es considerado como uno de los transmisores más importantes debido a su amplia distribución, a su capacidad de adaptarse a la vivienda humana y a que es capaz de explotar

diferentes fuentes de alimento y refugio (8-9). Varios estudios han demostrado diferencias en la tasa de infección de las diferentes especies de triatominos hacia *T. cruzi* (10-12). Del mismo modo, se han encontrado diferencias en cuanto al tiempo de defecación posterior a la ingesta de alimento (13-15). Estos parámetros permiten establecer la importancia epidemiológica de las especies de triatominos, dado que aquellas especies que tienen una alta tasa de infección y defecan en un periodo de tiempo más corto, tienen mayores probabilidades de transmitir al parásito (16-17).

Para *T. dimidiata*, se ha reportado una tasa de infección del 76 % y tiempos de defecación entre los 10-20 minutos posteriores a la alimentación (4,18). No obstante, la mayoría de estos estudios han utilizado ejemplares adultos, obviando de esta manera las diferencias que puedan existir en estos parámetros a lo largo de su ciclo de vida que consta de cinco estadios ninfales antes de llegar a la etapa adulta (**Figura 1**). El presente trabajo tiene como objetivo establecer y comparar la tasa de infección y el tiempo de defecación de los cinco estadios de *T. dimidiata* en condiciones de laboratorio. Esto, con el fin de aportar conocimientos que puedan ser de gran utilidad para el diseño e implementación de programas de control de esta especie en las zonas endémicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

La colonia original de triatominos y el aislado de *T. cruzi* se obtuvieron de la localidad Miguel Hidalgo, municipio de Copainalá, Chiapas, México (17°13'16" N y 93°21'08" O), durante una colecta en el 2010 (**Figura 2**). Los triatominos fueron mantenidos y reproducidos en laboratorio a condiciones controladas de 25° ± 2 °C, 75% de humedad y un fotoperiodo de 12:12. Los insectos se mantuvieron en contenedores plásticos de 12 cm de largo por 6 cm de diámetro y alimentados *ad libitum* con sangre de rata

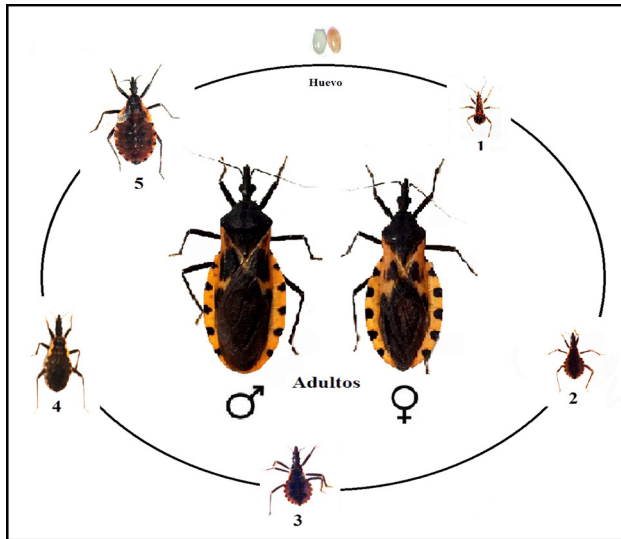


Figura 1. Ciclo de vida de *T. dimidiata*. El ciclo está compuesto por huevo, cinco estadios ninfales y la fase adulta.

de la cepa Wistar. Por su parte, el parásito fue mantenido en laboratorio mediante pasajes sucesivos en ratones de la cepa BALB/c cada 15 días a través de inoculaciones intraperitoneales (19).

De la colonia original se seleccionaron 30 individuos de cada estadio de *T. dimidiata* para conformar cinco grupos experimentales. Todos los ejemplares fueron colocados individualmente en frascos de 6 x 6 cm con papel filtro de fondo y mantenidas en las condiciones de luz, humedad y fotoperiodo mencionadas anteriormente.

Cada grupo fue alimentado a repleción con sangre de ratas de la cepa Wistar previamente inoculadas con 1×10^6 de tripanosomas sanguíneos. Los roedores fueron colocados en inmovilizadores y ofrecidos individualmente a los triatomos. La alimentación se realizó en un cuarto oscuro y concluyó hasta que los insectos retiraron su probóscide de la piel del roedor por más de cinco minutos. Una segunda alimentación se ofreció 20 días después siguiendo la misma metodología. La presencia de *T. cruzi* en los triatomos se confirmó mediante la observación directa de frotis de las heces de todos los ejemplares en microscopio óptico a objetivo 40x. La muestra

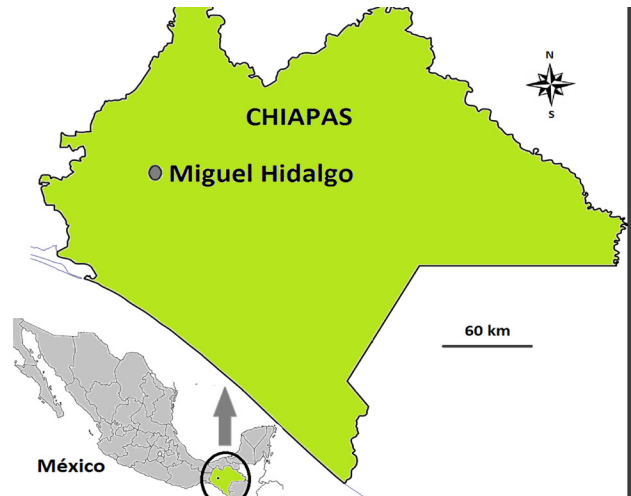


Figura 2. Ubicación de la localidad Miguel Hidalgo, municipio de Copainalá, Chiapas, donde se obtuvieron los insectos usados para pie de cría y el aislado de *T. cruzi*.

fecal se obtuvo por defecación espontánea del insecto o en su ausencia por presión abdominal. La observación para determinar el tiempo de defecación fue continua durante la alimentación y hasta por 30 minutos después de que retiraron la probóscide del roedor. A las ninfas que defecaron mientras se alimentaban se les asignó un valor de 0 minutos.

Se utilizó estadística descriptiva para determinar la tasa de infección y el tiempo de defecación por estadio ninfa. La normalidad de los datos del tiempo de defecación fueron analizados con la prueba Shapiro-Wilk. Diferencias entre los grupos fueron evaluadas con un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba post hoc de Tukey. Se consideraron diferencias significativas cuando $p < 0.05$. Todos los análisis y gráficas de las variables se realizaron con el software estadístico Infostat versión 2016.

RESULTADOS

La población total analizada fue de 150 ejemplares, de las cuales 99 resultaron positivos a la infección con *T. cruzi* (66 %) por corroboración de tripomastigotes metacíclicos en las heces (Figura 3). De los cinco grupos experimentales

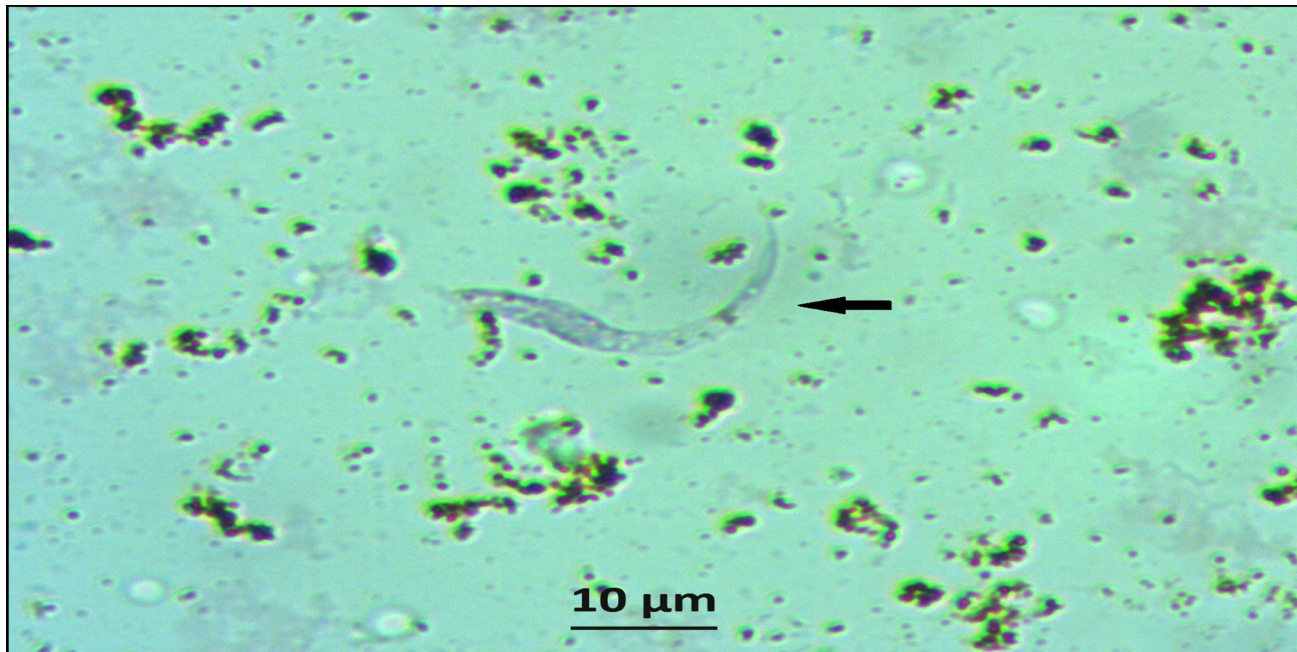


Figura 3. Tripomastigote metacíclico en heces de un ejemplar del tercer estadio de *T. dimidiata*. La muestra fue teñida con el Kit Hemocolorante rápido (HYCEL) y observada en microscopio óptico (100x).

correspondientes a cada estadio del insecto, los triatomíneos del quinto estadio mostraron una tasa de infección del 76 %, la cual fue superior al resto de los grupos evaluados (**Cuadro 1**). A pesar de las diferencias observadas, cabe mencionar que estas no fueron significativas ($p=0.0695$). Los individuos que resultaron negativos a la infección fueron analizados por segunda ocasión 10 días posteriores; no obstante, no se presentaron diferencias con respecto al primer análisis.

Figura 3.
Tasa de infección con *T. cruzi* de los diferentes estadios de *T. dimidiata*

Estadio	Individuos	Infectados	% Infección	Valor P
I	30	17	56	0.0695
II	30	17	56	
III	30	22	73	
IV	30	20	66	
V	30	23	76	
Total	150	99	66	

En relación al tiempo de defecación postprandial de los estadios de *T. dimidiata*, se encontraron diferencias significativas entre los grupos experimentales ($p=0.0001$). El tiempo de defecación más corto se observó en las ninfas del quinto estadio (4.16 ± 0.61 DE minutos), mientras que el tiempo más largo se registró en las ninfas del primer estadio (**Figura 4**). De hecho, la mayoría de estos ejemplares defecaron después del periodo de observación establecido (30 minutos), por lo que se les asignó un valor de 30 minutos. Asimismo, cabe señalar que entre los grupos del tercer y cuarto estadio no se presentaron diferencias significativas ($p=0.0948$).

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio muestran que todos los estadios ninfales de *T. dimidiata* son capaces de infectarse con el parásito *T. cruzi*, sin diferencias significativas entre los estadios ($p>0.05$). Esto indica que *T. dimidiata* es un vector potencial del parásito durante todo su ciclo

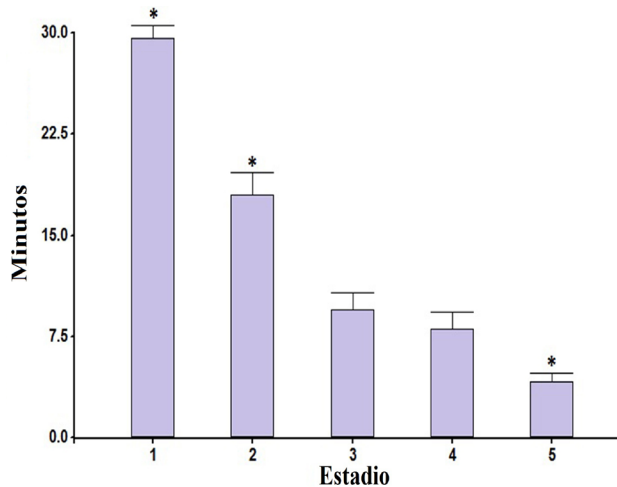
Tasa de infección y defecación de *Triatoma dimidiata*

Figura 4. Tiempo de defecación de los diferentes estadios de *T. dimidiata*. El asterisco (*) indica diferencias significativas ($p < 0.05$)

de vida, aunque contrasta con otros trabajos en los que se reportan la nula o baja infección de los dos primeros estadios, lo que ha conducido a su exclusión en algunos estudios epidemiológicos (20-24).

Hasta el momento no se conocen con exactitud las bases que provocan diferencias en la tasa de infección de las diferentes especies de triatominos. Algunos autores sugieren que hay una adaptación mutua entre los transmisores triatominos y *T. cruzi* de una misma región geográfica (25-26). Además, factores como los componentes de la saliva, del estómago, enzimas digestivas, temperatura y pH, pueden llegar a afectar la diferenciación del parásito en el insecto (27-29). Considerando todos los individuos del experimento, se obtuvo el 66 % de ejemplares infectados, cifra menor comparada con otras especies importantes en México como *M. pallidipennis* y *T. barberi* que presentan tasas de infección del 98.33 % y 89 % en el tercer estadio, respectivamente (10,12). A pesar de presentar una tasa de infección menor que otras especies, es quizá la capacidad de adaptación a la vivienda humana de *T. dimidiata* la que puede jugar un papel más importante en la transmisión

del parásito a humanos y otros animales.

Por otro lado, el tiempo de defecación mostró diferencias significativas entre los diferentes grupos experimentales ($p < 0.05$), presentando los triatominos del quinto estadio tiempos más cortos después de la alimentación (4.16 min). Resultados similares también han sido reportados con *R. prolixus* (30). El hecho de que se presenten defecaciones en lapsos cortos de tiempo, aumentan las posibilidades de que los triatominos infectados defecuen sobre la piel del huésped y de esta forma el parásito penetre en el vertebrado a través de la lesión ocasionada por la probóscide del insecto u otras vías de acceso como laceraciones, mucosas o conjuntiva (31-32). En general, los tiempos obtenidos en todos los estadios fueron más cortos que los reportados para otras especies como *T. rubida* y *T. guasayana* (33-34). El tiempo de defecación puede estar influenciado por factores como la temperatura, humedad, frecuencia de alimentación, variación genética, entre otros (6,35). Esto podría explicar las diferencias observadas entre las poblaciones de triatominos de diferentes regiones geográficas.

En este reporte se considera al quinto estadio de *T. dimidiata* como un transmisor eficaz de *T. cruzi*. Sin embargo, debido a la infección exhibida en todos los estadios, surge la necesidad de estudiar la capacidad de esta especie de transmitir al parásito durante todo su ciclo de vida; como por ejemplo, la metaciclogénesis por estadio. Un entendimiento sobre las bases de la transmisión vectorial fomentaría la creación de estrategias que permitan reducir la tasa de morbilidad de la enfermedad de Chagas en las zonas endémicas.

REFERENCIAS

1. **Rassi A. Jr, Rassi A, Neto, M.** Chagas disease. Lancet. 2010 Abr; 17(375): 1388-402.
2. **World Health Organization.** First report on neglected tropical diseases 2010: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Geneva Switzerland: WHO; 2010.
3. **Rawling E & Sethi A.** Chagas disease: Coming to

- a place near you. *Dermatol Clinic*. 2011 Ene; 29(1): 53-62.
4. **Salazar-Schettino PM, De Haro M, Cabrera M.** Tres especies de triatomínicos y su importancia como vectores de *Trypanosoma cruzi* en México. *Medicina*. 2005 Sep; 65(1): 63-9.
 5. **Noireau F, Diosque P, Jansen M.** *Trypanosoma cruzi*: adaptations to its vectors and its host factors. *Vet Rest*. 2009 Mar; 40(26): 1-23.
 6. **Jurberg J & Galvão C.** Biology, ecology, and systematic of *Triatominae* (Heteroptera, Reduviidae), vectors of Chagas disease, and implications for human health. *Denisia* 19, zugleich Kataloge der OÖ. Landesmuseen Neue Serie 50. 2006 ago; 50(19): 1095-1116.
 7. **Salazar-Schettino PM, Rojas-Wastavino GE, Cabrera-Bravo M, Bucio-Torres MI, Martínez-Ibarra JA, Monroy-Escobar MC, et al.** A revision of thirteen species of *Triatominae* (Hemiptera: Reduviidae) vectors of Chagas disease. *J Selva Andina Res Soc*. 2010 Oct; 1(1): 57-80.
 8. **Reyes-Novelo E, Ruiz-Piña HA, Escobedo-Ortegón J, Barrera-Pérez MA.** Biología y ecología de *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811), algunos aspectos de estudio. *Dugesiana*. 2011 abr; 18(1): 11-6.
 9. **Velasco-Castrejón O & Rivas-Sánchez B.** Apuntes para la historia de la enfermedad de Chagas en México. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2008 Ene; 65(1): 57-79.
 10. **Alejandro-Aguilar R, Nogueta-Torres B, Calvo-Mendez ML, Cortés-Jiménez M.** Estudio comparativo de la susceptibilidad de cinco especies de triatomínicos (*Insecta: Reduviidae*) a la infección con *Trypanosoma cruzi*. *Rev Lat Amer Microbiol*. 1993; jul 35: 201-6.
 11. **Campos R, Acuña-Retamar M, Botto-Mahan C, Ortiz S, Cattán PE, Solari A.** Susceptibility of *Mepraia spinolai* and *Triatoma infestans* to different *Trypanosoma cruzi* strains from naturally infected rodent hosts. *Acta Tropica*. 2007 Nov; 104(1): 25-9.
 12. **Pérez-Rivero JM.** Estudio de la susceptibilidad de triatomínicos (*Hemiptera: Reduviidae*) mexicanos a *Trypanosoma cruzi* cepa NINOA. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias microbiológicas. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. México, D.F. Diciembre 2010.
 13. **Castillo D & Wolff M.** Aspectos del comportamiento de los triatomínicos (*Hemiptera: Reduviidae*), vectores de la enfermedad de Chagas. *Biomédica*. 2000 Mar; 20(1): 59-64.
 14. **Nogueta-Torres B, Alejandro-Aguilar R, Isita-Tornell L, Camacho AD.** Defecation Pattern in seven species of Triatomines (*Insecta, Reduviidae*) present in Mexico. *Rev Latinoam Microbiol*. 2000 Oct; 42(2): 145-8.
 15. **Bar ME, Milano AM, Damborsky MP, Oscherov EB, Avalos G.** Patrones de alimentación y de defecación de *Triatoma rubrovaria* (Heteroptera: Reduviidae) bajo condiciones de laboratorio. *Rev Soc Entomol*. 2003 Ene; 62(1): 107-13.
 16. **Noireau F, Flores R, Vargas F.** Trapping sylvatic Triatominae (Reduviidae) in hollow trees. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1999 Ene; 93(1): 13-4.
 17. **Crocco L, López A, Chartier D.** Competencia vectorial de *Triatoma platensis* (Neiva) (*Hemiptera: Reduviidae*): patrón alimentario y excretor en adultos y ninfas de quinto estadio. *Rev. Ibero-Latinoam. Parasitol*. 2010 Abr; 69(2): 134-9.
 18. **Zeledón R & Vieto PL.** Susceptibilidad de varias especies de triatomínicos a una cepa costarricense de *Schizotrypanum cruzi* Chagas, 1909. *Rev Biol Trop*. 1957 Ago; 5(2): 195-197.
 19. **Instituto Nacional de Salud.** Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de la Trypanosomiasis americana (Enfermedad de Chagas). 1th ed. Lima: Ministerio de Salud; 1999.
 20. **Schofield CJ.** Triatominae: biología y control. Wests sussex: Eurocomunica Publication; 2004.
 21. **Cecere MC, Castañera MB, Canale DM, Chuit R, Gürtler RE.** *Trypanosoma cruzi* infection in *Triatoma infestans* and other Triatomines: long-term effects of a control program in rural northwestern Argentina. *Rev Panam*. 1999 Dic; 5(6): 329-9.
 22. **Brener Z & Andrade Z.** *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 2000.
 23. **Linhares A.** *Vetores do Trypanosoma cruzi*. *Rev Patol Trop*. 2000 Oct; 29(1): 83-8.
 24. **Carvajal A, Orellana J, Wigant W, Bórquez C, Lobato I.** Prevalencia de triatomínicos infectados con *Trypanosoma cruzi* en litoral de la ciudad de Arica. *Parasitología Latinoamericana*. 2007 Dic; 62(3): 118-121.
 25. **Kollien AH & Schaub GA.** The development of *Trypanosoma cruzi* in Triatominae. *Parasitol Today*. 2000 Sep; 16(9): 381-7.
 26. **Alejandro-Aguilar R, Nogueta-Torres B, Isita-Tornell L, Mazariego -Arana M.** Susceptibilidad de Cinco Especies de Triatomínicos (*Hemiptera: Reduviidae*) en el Xenodiagnóstico Natural y Artificial de la Enfermedad de Chagas. *An. Esc. Nac. Cien. Biol*. 1996 may; 42: 75-83.
 27. **García ES, Gonzalez MS, Azambuja P.** Biological factors involving *Trypanosoma cruzi* life cycle in the invertebrate vector, *Rhodnius prolixus*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1999 Ago; 94(19): 213-6

Tasa de infección y defecación de *Triatoma dimidiata*

- 28. Azambuja P, Ratcliffe NA, García E.** Towards an understanding of the interactions of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* within the reduviid insect host *Rhodnius prolixus*. *An Acad Bras Cienc*. 2005 Mar; 77(3): 397-404.
- 29. García ES, Genta FA, Azambuja P, Schaun GA.** Interaction between intestinal compounds of triatomines and *Trypanosoma cruzi*. *Trends in Parasitology*. 2010 Oct; 26(10): 499-505.
- 30. Arévalo A, Carranza JC, Guhl F, Clavijo JA, Vallejo GA.** Comparación de los patrones de alimentación y defecación de *Rhodnius colombiensis* y *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) en condiciones de laboratorio. *Biomédica*. 2007 Ene; 27(1): 101-9.
- 31. Dias E, Laranja FS, Miranda A, Nobrega G.** Chagas disease; a clinical, epidemiologic, and pathologic study. *Circulation*. 1956 Dic; 14(6): 1035-60.
- 32. Rubio C, Moncada LI, Rojas MA, García A.** Comportamiento de *Rhodnius robustus* Larousse, 1927 (Hemiptera, Reduviidae) durante su alimentación en condiciones de laboratorio. *Biomédica*. 2013 Nov; 33(2): 205-13.
- 33. Loza-Murguía M & Noireau F.** Vectorial capacity of *Triatoma guasayana* (Wygodzinsky & Abalos) (Hemiptera: Reduviidae) compared with two other species of epidemic importance. *Neotrop Entomol*. 2010 Sep; 39(5): 799-809.
- 34. Reisenman CE, Savary W, Cowles J, Gregory TL, Hildebrand JG.** The distribution and abundance of Triatomine insects, potential vectors of Chagas disease, in a metropolitan area in southern Arizona, United States. *Journal of Medical Entomology*. 2012 Dic; 49(6): 1254-61.
- 35. Farfán-García AE & Angulo-Silva VM.** Conducta alimentaria de poblaciones de *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) en una zona endémica y sus implicaciones epidemiológicas. *Rev Salud Pública*. 2009 Feb; 13(1): 163-72.