



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Caracterización de aislados de *Trypanosoma cruzi*
presentes en chinches Triatominae infectadas del Estado
de Puebla

Tesis que para obtener el grado de

Maestra en Ciencias Biológicas

Presenta:

Biól. Karina Diaz Marin

Director: Dr. César Antonio Sandoval Ruiz

Codirector: Dr. Angel Ramos Ligonio

02/02/2026





BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

H. Puebla de Z. a 23 de enero de 2026

Asunto: Voto Aprobatorio

Comité Académico del Posgrado
PRESENTE

Por medio de la presente se hace constar que se revisó y aprobó la tesis titulada:

“Caracterización de aislados de *Trypanosoma cruzi* presentes en chinches Triatominae infectadas del Estado de Puebla”

Que presenta el (la) estudiante Karina Diaz Marin con número de matrícula 223470510, aspirante al grado de **Maestra en Ciencias Biológicas**, de la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento: **“Estructura y funcionamiento de los seres vivos”**, notificamos que la tesis reúne los requisitos y se aprueba para su réplica oral en el examen de grado.

Por lo tanto, emitimos los **VOTOS APROBATORIOS** como miembros del **Comité de Jurado de Examen de Grado** como a continuación se indica:

Tutor Interno: Dra. Etelvina Gándara Zamorano

Tutor Externo: Dr. Alejandro Carabarin Lima

Revisor: Dr. Carlos Antonio Abella Medrano

Agradecemos de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Facultad de
Ciencias Biológicas

Edif. 1 BIO 1, Ciudad Universitaria,
Puebla, Pue. C.P. 72570
01 (222) 229 55 00
Ext. 7097, 7085, 7084 y 7086

DECLARATORIA

Yo, Karina Diaz Marin, declaro que el trabajo de investigación presentado en este documento titulado “**Caracterización de aislados de *Trypanosoma cruzi* presentes en chinches Triatominae infectadas del Estado de Puebla**” es resultado de un esfuerzo propio, de ninguna manera ha sido copiado o modificado de otras investigaciones, proyectos o similares, tampoco se usaron ideas ni ilustraciones de otras fuentes que no estén citados de manera correcta.

Esta investigación no ha sido presentada anteriormente para obtener algún título o grado académico, ni ha sido publicada, por lo que me hago plenamente responsable ante la universidad de cualquier irregularidad que pudiera presentarse por el incumplimiento de lo aquí declarado

Heroica Puebla de Zaragoza 04 de diciembre del 2025



Biol. Karina Diaz Marin

DEDICATORIA

Para Hades

**"Un perro es la única
cosa en la tierra que te
quiere más de lo que se
quiere a sí mismo"**

-Josh Billings

AGRADECIMIENTOS

A SECIHTI, por el apoyo económico otorgado, a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y a la Universidad Veracruzana, por permitirme llevar a cabo la investigación en sus instalaciones.

Al Dr. César, mi director, sin su valiosa guía y dedicación este trabajo no hubiera sido posible.

Para mi codirector, Angel Ramos y los miembros de su equipo, agradezco su franca enseñanza.

A mis amigos, Itzel, Mario y Eduardo por el tiempo juntos en el laboratorio, su paciencia, apoyo, su compañía en las salidas de campo y las risas compartidas, hicieron de mi estancia en el LAS una experiencia maravillosa.

Para mis confidentes, Alberto, Oxana y Antonio quienes me escucharon y aconsejaron con amor, paciencia y respeto a lo largo de estos años, aunque no ha sido fácil, gracias a ustedes, ha costado menos.

Hades, mi fiel compañero y eterno amor, mi compañía en las noches de desvelo, eres parte fundamental de este logro y de mi vida, a mi Pando, que, aunque ya no estés a mi lado, te pienso cada día.

Agradezco profundamente a los centros de salud que fueron parte de este proyecto, su ayuda, su compromiso e interés marcaron una diferencia, así mismo quiero agradecer especialmente al Dr. Emmanuel Rossini Galicia, a la Dra. Elena Stefany Vargas Nava y a la Lic. en Enfermería Jenifer Olivares Casarez quienes fueron más que colaboradores, amigos.

A la familia Bravo que amablemente me abrió las puertas de su casa, su hospitalidad significó mucho para mí, quiero agradecer especialmente a Iván Bravo, quien me enseñó tanto, su apoyo fue fundamental para llevar a cabo este proyecto.

Y finalmente, a mi amado, gracias por sostener mi mano durante estos años, mi vida no sería igual sin ti acompañándome en cada paso que doy, has sido un pilar en mi vida, gracias por ser, gracias por estar, por no soltarme.

ÍNDICE

1.	RESUMEN	8
2.	INTRODUCCIÓN	9
3.	MARCO TEÓRICO	10
2.1	ENFERMEDAD DE CHAGAS.....	10
2.2	IMPORTANCIA SOCIOECONÓMICA	11
2.3	VECTORES	11
2.3.1	DOMICILIACIÓN	9
2.5	AGENTE ETIOLÓGICO.....	11
2.6	CUADRO CLÍNICO.....	12
2.7	FORMAS DE TRANSMISIÓN.....	15
2.8	CHAGAS EN EL MUNDO	15
2.9	DIVERSIDAD GENÉTICA.....	16
3	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	18
4	HIPÓTESIS.....	19
5	OBJETIVOS.....	19
5.1	Objetivo general:.....	19
5.2	Objetivos específicos:.....	19
6	MÉTODOS.....	19
6.1	Colecta de triatominos.....	21
6.2	Diagnóstico parasitoscópico	22
6.3	Pruebas moleculares	22
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
7.1	Estudio de triatominos colectados en el estado de Puebla y su infección natural con Trypanosoma cruzi	24
7.2	Obtención de aislados de Trypanosoma cruzi a partir de triatominos infectados.....	25
7.3	Identificación molecular de aislados de Trypanosoma cruzi mediante análisis de peso molecular del ADN	32
8.	CONCLUSIÓN.....	38
9	PERSPECTIVAS FUTURAS	39
10	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

1. RESUMEN

Introducción. La Tripanosomiasis americana es una zoonosis ampliamente extendida a lo largo del continente americano, el agente causal de la enfermedad, *Trypanosoma cruzi*, posee una amplia variación genética, la cual ha demostrado ser determinante en las diferentes formas de manifestación de esta enfermedad. **Objetivo.** Durante el presente estudio se buscó registrar los diversos DTUs circulantes en triatominos naturalmente infectados en el estado de Puebla. **Estrategia experimental.** Se recolectaron chinches del género *Triatoma* en varias localidades del estado de Puebla, utilizando dos métodos: captura directa y participación comunitaria. A partir de los insectos, se obtuvieron las heces de insectos vivos y muertos; se realizó un lavado intestinal utilizando solución PBS. Posteriormente, a partir de las heces y de los lavados se extrajo el material genético por calentamiento. Se realizó una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para determinar la presencia y la unidad discreta de tipificación (DTU) del parásito, los productos de la PCR fueron analizados en geles de agarosa al 1.8% teñidos con Bromuro de Etidio. También se analizaron los índices entomológicos (índice de infección natural de la enfermedad, índice de infestación intra y extradomiciliario) **Resultados.** Se recolectaron un total de 80 triatominos, pertenecientes a tres especies: *Triatoma pallidipennis*, *Triatoma bassolsae* y *Triatoma dimidiata*. De este total, 59 ejemplares correspondieron a *T. pallidipennis*. La mayoría de los triatominos (78.8%) se obtuvieron mediante participación comunitaria. El índice de infección natural fue del 67.94%, y el 75.64% de los insectos se encontraron dentro de las viviendas. Aunque la mayor parte de los triatominos infectados portaban el DTU TcI, se documenta por primera vez en el estado de Puebla la presencia de DTUs no-TcI y también de aislamientos mixtos. **Conclusión.** Los índices de infección natural han mostrado un aumento en comparación con reportes previos para el estado de Puebla. Además, el registro de DTUs no-TcI sugiere cambios en el comportamiento epidemiológico de la enfermedad. Estos hallazgos subrayan la necesidad de desarrollar planes de acción para reducir el riesgo de transmisión en las regiones endémicas.

2. INTRODUCCIÓN

La Enfermedad de Chagas, también llamada tripanosomiasis americana, es provocada por el protozoo *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909), su amplia distribución y los altos índices de infección en el hombre, así como en otros mamíferos, lo convierte en uno de los mayores problemas de salud pública, principalmente en Latinoamérica, donde el vector se encuentra naturalmente distribuido (Miles, 1983; Guhl, 2009; Lidani *et al.*, 2019; De Sousa *et al.*, 2024).

Aunque existe una gran variedad de formas de contagio, en zonas endémicas la principal forma de transmisión corresponde a la transmisión vectorial, por lo que se considera de suma importancia la divulgación de medidas preventivas que permitan a la población minimizar su contacto con el vector (García-Zapata *et al.*, 1994; Montgomery *et al.*, 2016; Bernt *et al.*, 2019).

La domiciliación de los triatominos ha provocado un constante contacto entre las poblaciones humanas con los vectores (Klotz *et al.*, 2021), por lo que, según las estimaciones, existen al menos seis millones de personas portadoras de la enfermedad de Chagas en el continente americano, entre el 20 y el 30% de esas personas en algún momento presentarán síntomas cardíacos como cardiopatía chagásica crónica o síntomas gastrointestinales que incluyen megaesófago y megacolon (Campbell *et al.*, 2004; Bernt *et al.*, 2019). La sintomatología desarrollada depende de una gran variedad de factores que pueden incluir la respuesta inmune del hospedero, la genética de *T. cruzi*, y la adquisición de infecciones mixtas (Macedo *et al.*, 2002; Buscaglia y Di Noia, 2003).

El flujo genético entre *T. cruzi* se había considerado como algo raro o hasta ausente en su totalidad, por lo anterior el parásito se consideró por mucho tiempo como clonal (Tibayrenc y Ayala, 1988); sin embargo, la evidencia hasta el momento indica que la producción meiótica puede ser más común de lo que se pensaba anteriormente ya que se ha reportado una variedad de alteraciones o cambios en el genoma de *T. cruzi*, estas variantes en su genoma han recibido diferentes nombres, pero actualmente son clasificadas en seis unidades de tipificación discreta (DTU) (Souto *et al.*, 1996; Zingales *et al.*, 2009; Zingales *et al.*, 2012).

Estas variaciones reportadas poseen una relación con la manera en la que se

Desarrolla la enfermedad, la virulencia, patogenicidad y recientemente se ha reportado una relación entre los DTU's y la resistencia a fármacos anti tripanocidas (Messenger *et al.*, 2015; Zingales *et al.*, 2018; Vela *et al.*, 2021).

3. MARCO TEÓRICO

2.1 ENFERMEDAD DE CHAGAS

La enfermedad de Chagas (EC) o tripanosomiasis americana es una zoonosis transmitida a una gran variedad de mamíferos por chinches hematófagas de la subfamilia Triatominae, es una zoonosis sumamente compleja debido a que están involucrados un alto número de hospederos y vectores fuertemente asociados a la transmisión de la enfermedad (Atías y Atp, 1991; Guhl, 2000; Steverding, 2014).

Esta zoonosis fue descrita por el médico brasileño Carlos Ribeiro Justiniano Chagas en 1908 mientras participaba en una campaña contra la malaria, mientras Chagas diseccionaba insectos hematófagos halló un alto número de parásitos en el intestino medio de esos insectos, nombrándolo *Schizotrypanum cruzi* actualmente *Trypanosoma cruzi*, en honor a su tutor Oswaldo Cruz. Una vez descritos estos insectos fueron usados para picar a algunos monos tití, encontró en la sangre de los monos a los mismos parásitos observados previamente, de manera que fue posible demostrar que al menos una parte del ciclo biológico de *T. cruzi* tenía lugar en mamíferos (Chagas, 1909; Steverding, 2014; Chao, 2020).

Un año después, Carlos Chagas examinó a una niña de 2 años de nombre Berenice, quien presentaba inflamación en algunos órganos como bazo e hígado, inflamación en ganglios linfáticos y edema facial, posteriormente fue examinada su sangre haciendo posible visualizar una cantidad significativa de organismos microscópicos que correspondían a los observados el año previo en los monos infectados en laboratorio, estos acontecimientos le permitieron describir lo que hoy es conocido como fase aguda de la EC. Aunque Berenice se mantuvo como asintomática después de pasar por la fase aguda, le fueron realizados estudios clínicos en los cuales se le realizaron extracciones sanguíneas en dos ocasiones con el fin de aislar a *T. cruzi* confirmándose así que toda su vida permaneció infectada, sin embargo, la causa de su muerte fue ajena a la enfermedad de Chagas (Haro, 2003; Steverding, 2014).

El ciclo silvestre de la enfermedad también fue descrito por Chagas quien encontró que el armadillo es un reservorio natural de *T. cruzi*, posteriormente fue posible encontrar a otros mamíferos silvestres que funcionan como reservorios del ciclo enzoótico de *T. cruzi* (Rodrigues y Pinto, 2009).

2.2 IMPORTANCIA SOCIOECONÓMICA

La distribución de los vectores de la EC abarca desde los grandes lagos en los Estados Unidos de América hasta la Patagonia en la Argentina (Lent & Wygodzinsky, 1979; Browne *et al.*, 2017), afectando seriamente al humano debido a que muchas especies de chinches Triatominae, se han vuelto parcial o totalmente domiciliarios (Sandoval-Ruiz *et al.*, 2004; Bianchi *et al.*, 2021; Klotz *et al.*, 2021).

El impacto de la enfermedad se encuentra asociado a los Años de Vida Ajustados por Discapacidad (AVAD), termino definido por la OMS (2025) como la pérdida del equivalente a un año de plena salud, lo que incluye la suma de los años de vida perdidos debido a la mortalidad prematura (AVPP) y los años vividos con una discapacidad (AVD).

La EC además de poseer un ciclo biológico complicado, representa una carga económica considerable, durante el periodo de 2006 a 2017, el valor global de las personas infectadas fue de 7.2 mil millones de dólares, el costo anual por pacientes ambulatorios está entre 4,463 y 9,601 dólares, mientras que el costo en pacientes admitidos por emergencias se encuentra entre 6,700 y 11,838 mil dólares en costos de atención médica (Arnal *et al.*, 2019).

En México, la EC se considera una enfermedad desatendida por el sector salud, lo que propicia limitaciones de búsqueda, diagnóstico, registro, atención integral y tratamiento, ya que no ha sido una prioridad de la política sanitaria en México, como lo demuestra el lapso de 20 años entre la publicación de los resultados de 1.5% de seroprevalencia para *T. cruzi* de la Primera Encuesta Nacional Sero-epidemiológica (Ramsey *et al.*, 2021).

2.3 VECTORES

Los vectores responsables de transmitir EC son insectos hemimetábolos pertenecientes al orden Hemiptera, subfamilia Reduviidae. Presentan 5 estadios ninfales antes de llegar a la madurez, durante todo su ciclo de vida son hematófagos,

alimentándose principalmente de sangre de mamíferos y aves, sin embargo, estudios recientes han comprobado también la ingesta de sangre de anfibios y reptiles (Murillo-Solano *et al.*, 2021).

Los triatominos se consideran insectos de hábitos principalmente nocturnos, este comportamiento les permite alimentarse de sus hospederos cuando se encuentran en un periodo de reposo, picando partes del cuerpo que se encuentran expuestas, en caso de alimentarse de humanos muestran preferencia por la cara (Jurberg y Galvao 2006).

Al tener que buscar a sus hospedadores en condiciones de poca o nula presencia de luz, los triatominos han desarrollado diferentes estrategias que les permiten alimentarse de manera eficiente, tal como su capacidad para percibir señales químicas como el dióxido de carbono y otros volátiles, sin embargo, principalmente se utilizan la emisión de calor para guiarse a su hospedero, utilizando la radiación térmica para localizar vasos sanguíneos (De fuentes-Vicente *et al.*, 2020; Lorenzo *et al.*, 2025).

Por los ambientes con los que interactúan, los triatominos se dividen en tres ciclos epidemiológicos (Schofield 1994; Guhl 2009; Chico-Avelino *et al.*, 2022); pertenecen al ciclo silvestre cuando se encuentran en ambientes poco perturbados, buscando refugio en madrigueras, rocas y árboles, interactúan con animales nativos de la zona que son infectados de forma natural (Vallejo *et al.*, 2019). Los triatominos que pertenecen a ciclos peridomiciliados habitan en los alrededores de las viviendas, compartiendo refugios y reservorios de ambos ciclos, finalmente, en ciclos domésticos el triatomo habita dentro de las viviendas, alimentándose de humanos y animales domésticos, refugiándose en grietas de las paredes, entre las tejas o en lugares donde hay poco movimiento, consiguiendo así acceso seguro a los hospederos vertebrados (Noireau *et al.*, 2002; Catalá *et al.*, 2017).

2.3.1 DOMICILIACIÓN

Del total de 35 especies de triatominos reportadas actualmente en México (Téllez-Rendón *et al.*, 2023), 19 de ellas son encontradas principalmente en ambientes domésticos. Entre las especies que se relacionan con la transmisión vectorial de EC en humanos se encuentran *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811), *Hospesneotomae barberi* (Usinger, 1939) y *Triatoma pallidipennis* (Stål, 1872) presentes en áreas

urbanas y periurbanas (Salazar-Schettino *et al.*, 2019). Existe un aumento en la incidencia de *T. pallidipennis* dentro de los domicilios, por lo que es posible que los humanos se hayan convertido en su principal fuente de alimento (García-Mares *et al.*, 2022).

A pesar del impacto de la EC en la salud pública, se considera que de manera inicial su existencia en los humanos fue puramente accidental, debido a la antropización (Page, 1994; Guhl, 2009). Los asentamientos humanos entraron en contacto con los sitios naturales de transmisión provocando desequilibrios ecológicos, lo que forzó a los triatominos infectados a habitar en viviendas humanas, teniendo como consecuencia el proceso de domiciliación, esto puede ser visto claramente con en los datos del INEGI, en 1950 la cantidad de personas que habitaban en comunidades rurales representaba 57% del total de la población del país; para 1990 era de 29% y para 2020, se ubica en 21%, mostrando un cambio en la distribución poblacional INEGI (2020).

Cuando los triatominos encontraron refugio en los asentamientos humanos cambiaron su preferencia alimentaria, alimentándose de humanos y animales sinantrópicos, de modo que el humano comenzó a integrarse de manera activa en la cadena epidemiológica de la tripanosomiasis americana (Guhl, 2009).

El proceso de domiciliación implica una red compleja de factores siendo contemplada como una extensión de la ruta evolutiva, para Triatominae se considera que el proceso es irreversible, ya que al pasar de hábitats silvestres a domésticos es probable que estos organismos pierdan la capacidad de reintegrarse a ambientes menos estables, lo que se explica con la simplificación genética provocada por el efecto fundador durante el proceso de domesticación (Schofield *et al.*, 1999). La observación de los cambios morfológicos, métricos y genéticos de varias especies en la transición del hábitat selvático al doméstico ha respaldado la hipótesis de que las especies hermanas en Triatominae reflejan convergencia morfológica (Dujardin, 1998; Montes de Oca-Aguilar *et al.*, 2022). Se sugiere que, debido a la rápida adaptación morfológica a nuevas condiciones, pueden surgir nuevas unidades evolutivas que aún comparten un trasfondo genético común (Dujardin, 1999; Weirauch, 2021; Montes de Oca-Aguilar *et al.*, 2022). Considerando la capacidad vectorial, así como la distribución de triatominos y movimientos poblacionales es posible comprender las diferencias en la prevalencia de la enfermedad de Chagas (Ramírez-Hernández y Ramsey 2020; Meraz-Medina *et al.*, 2024) La domiciliación de vectores provoca un aumento en el

riesgo de contagio, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que entre 6 y 7 millones de personas principalmente en América Latina están infectados con *T. cruzi*, mientras que se encuentran en riesgo de ser infectados al menos 110 millones de individuos en 21 países en América (OMS, 2023).

2.5 AGENTE ETIOLÓGICO

Trypanosoma cruzi es un protozoo flagelado perteneciente al Phylum Protozoa, superclase Mastigophora, orden Kinetoplastida, como el resto de los organismos pertenecientes a este orden, posee un kinetoplasto, organelo que posee DNA, es un protozoo monoflagelado, presentando diferencias significativas en sus formas celulares (Stevens *et al.*, 2001).

Dentro de su complejo ciclo biológico, *T. cruzi* necesita dos hospederos y presenta tres estadios biológicos con diferencias fisiológicas y morfológicas significativas, caracterizadas por la posición de kinetoplasto. Cuando se encuentra dentro del intestino medio del triatmino, *T. cruzi* en respuesta al cambio de temperatura, el pH, tensión de oxígeno y estrés nutricional entre el mamífero y el insecto, adquiere la forma de epimastigote (Contreras *et al.*, 2009; Navarro *et al.*, 2012). La forma de epimastigote se caracteriza por su forma alargada, con el kinetoplasto en posición anterior respecto al núcleo. Esta es la forma replicativa en el insecto, durante esta etapa el epimastigote se divide por fisión binaria (Rey, 1992; Stevens y Brisse, 2003; Navarro *et al.*, 2012).

El tripomastigote es la fase infectiva con el kinetoplasto posicionado en la región posterior respecto al núcleo aunado a eso, es considerablemente más grande que durante otros estadios, es posible encontrarlo en la sangre de mamíferos infectados, posee una membrana ondulante característica (Rey, 1992; Stevens y Brisse, 2003; Peña-Callejas *et al.*, 2022).

Finalmente, el amastigote es la forma intracelular y replicativa de *T. cruzi* en el hospedero vertebrado, posee una forma redonda con el núcleo en posición anterior con respecto al kinetoplasto, pierde el flagelo y su división se da por fisión binaria, durante este estadio es posible encontrarlo en el tejido muscular (Rey, 1992; Stevens y Brisse, 2003; Peña- Callejas *et al.*, 2022).

2.6 CUADRO CLÍNICO

La enfermedad posee dos fases, aguda y crónica, mientras que la fase crónica se subdivide en determinada e indeterminada (Duque-Montoya y Ospina-Ríos, 2021; De Souza *et al.*, 2024). Durante la fase aguda el paciente puede presentar una sintomatología generalizada y caracterizada por fiebre prolongada, inflamación en los ganglios, edema local y malestar general, por otra parte, de tratarse de una transmisión vectorial el paciente puede presentar signos patognomónicos de la infección como son un chagoma en el sitio de la picadura o un edema bpalpebral ocular conocido como signo de Romaña, sin embargo, también es posible cursar la fase aguda de manera asintomática (Rassi y Marin-Neto 2010). La fase aguda está caracterizada por una alta cantidad de parásitos que circulan a través del torrente sanguíneo, la duración promedio es de entre 4 a 8 semanas, y se estima que entre el 70% y 80% de las personas infectadas permanecen asintomáticas durante toda su vida (OPS, 2020; OMS, 2023). Los parásitos pueden ser encontrados formando nidos de amastigotes en los tejidos comprometidos, con una alta incidencia en el tejido músculo esquelético y el corazón (Moya, 2016).

Durante la fase indeterminada crónica la respuesta inmune del hospedero disminuye la carga parasitaria manteniendo de esta manera la infección de forma focalizada, durante esta fase la multiplicación intracelular de los parásitos es lenta, además no hay signos clínicos de la enfermedad, esta fase es la más común entre los individuos infectados, puede mantenerse sin cambios de 10 a 20 años y la única manifestación de la EC se obtiene de pruebas serológicas específicas (Maldonano *et al.*, 1997).

Por otro lado, en la fase crónica puede existir una multiplicación significativa de *T. cruzi* en las fibras del músculo cardíaco, eventualmente ocasionando miocarditis, una vez que la inflamación alcanza al subendocardio (De Souza, 2002). Las manifestaciones cardíacas suelen asociarse a pronósticos negativos, en otros casos, los pacientes infectados pueden presentar manifestaciones gástricas caracterizadas por lesiones hipertróficas del tubo digestivo, así como megaformaciones, destacándose el megaesófago y el megacolon (Zaman, 1979; Atías y Atp, 1991; Campos *et al.*, 2001); dependiendo la respuesta inmune del huésped, la evasión al sistema inmune por parte de *T. cruzi* entre otros factores asociados a la interacción parásito-hospedero (De Alba-Alvarado *et al.*, 2023; Frade *et al.*, 2025).

2.7 FORMAS DE TRANSMISIÓN

La tripanosomiasis americana tiene distintas formas de transmisión, entre las que se encuentra la vía congénita o transplacentaria, que representa el 9% de las infecciones, la transmisión de la enfermedad se da entre las 12 y 20 semanas de gestación (sdg) según el nivel de parasitemia y el daño placentario (Shikanai-Yasuda *et al.*, 2012; Beatty y Klotz 2020; López-García y Gilabert 2023).

La transfusión sanguínea representa entre 5-20% de los contagios, siendo el segundo mecanismo más importante de transmisión (Ramos-Ligonio *et al.* 2006). Otras formas de adquisición de la enfermedad son el trasplante de órganos, la ingesta de alimentos contaminados, contacto con secreciones de algunos mamíferos reservorios y accidentes de laboratorio (OPS, 2020). No obstante, en Latinoamérica *T. cruzi* se transmite principalmente por contacto con las deyecciones infectadas de triatominos que se alimentan de sangre, es el mecanismo más importante en humanos y representa entre el 80 y el 90% de las personas infectadas (OMS, 2023). El ciclo natural del parásito se mantiene por triatominos silvestres, los cuales se infectan al realizar la hematofagia sobre mamíferos infectados, transmitiendo el parásito al humano y a mamíferos domésticos (Hodo y Hamer 2017).

2.8 CHAGAS EN EL MUNDO

Los movimientos poblacionales del humano han modificado el perfil epidemiológico de esta enfermedad y la han convertido en un riesgo mundial debido a que es considerada como emergente en países no endémicos (Guhl, 2000; OMS, 2023; Wilke *et al.*, 2025).

Esto se ha demostrado en diversos estudios, como el realizado por Lozano *et al.*, donde por medio del uso de cribados para detectar EC en los sueros sanguíneos de pacientes del Hospital Universitario Politécnico en Valencia, España, encontraron una prevalencia de anticuerpos anti-Tcruzi del 11.7%, aquellos pacientes adultos con serología positiva eran originarios de países endémicos, sin embargo, se detectó *T. cruzi* mediante PCR en 20% de las mujeres embarazadas, comprobando de ese modo el riesgo de emergencia de EC en Valencia, España (Lozano *et al.*, 2024).

En Japón, por otro lado, a pesar de ser hogar de aproximadamente 300,000 migrantes latinoamericanos la EC no es reconocida como enfermedad en el Sistema Nacional

de Salud Japonés por lo que el tratamiento para la misma no está aprobado ni comercializado en el país, debido a la cantidad de migrantes analizaron una serie de participantes que habían habitado en América Latina, encontrando una tasa de prevalencia del 1.6% (Rodríguez *et al.*, 2023).

Italia ha sido reconocida como el segundo país europeo con mayor número de migrantes latinoamericanos, por lo que la EC fue reconocida como un problema de salud pública (Antinori *et al.*, 2017). Debido a ello, Burdino *et al.*, (2025) realizaron un tamizaje mediante pruebas serológicas para detectar anticuerpos a *T. cruzi* encontrando una tasa de prevalencia del 3.17%.

Las tasas de prevalencia en países no endémicos demuestran cambios en la distribución de la enfermedad, así como una creciente necesidad de implementar programas de cribados sanguíneos eficientes y de detección oportuna con la finalidad de evitar contagios por transfusión sanguínea o trasplante de órganos, así como el oportuno tratamiento a infantes nacidos con EC (Antinori *et al.*, 2017; Abras *et al.*, 2022; Rodríguez *et al.*, 2023; Burdino *et al.*, 2025).

2.9 DIVERSIDAD GENÉTICA

Trypanosoma cruzi es genéticamente diverso y se ha clasificado en una serie de cepas o subtipos (Barnabe *et al.*, 2000). Con el paso del tiempo, se han utilizado numerosos enfoques para caracterizar la estructura genética de las poblaciones conocidas de *T. cruzi*, teniendo como meta establecer el número de subgrupos considerados de relevancia. De manera que, estos subgrupos han recibido diferentes designaciones, comenzando con biodemas (Andrade 1974), zimodemas (Miles *et al.* 1977), esquizodemas (Morel *et al.*, 1980), linajes (Souto *et al.*, 1996), unidades de tipificación discreta (DTU) entre otros (Zingales *et al.*, 2009).

Inicialmente, la diversidad genética previamente mencionada fue descubierta usando un panel de marcadores de isoenzimas para investigar las diferencias entre los parásitos involucrados en el ciclo doméstico y selvático en el estado de Bahía de Brasil (Miles *et al.*, 1977), las variantes descritas se denominaron zimodemas I y II (ZI y ZII) (Telleria y Tibayrenc, 2017). Actualmente, se denomina a la diversidad genética de *T. cruzi* mediante seis unidades de tipificación discretas (*T. cruzi* I-VI), la homogeneización en la nomenclatura tiene como objetivo mejorar la comunicación dentro de la comunidad científica involucrada en la investigación de este organismo

(Zingales *et al.*, 2009). Cada una de las cepas presentes en el parásito corresponde a diversos genotipos de *T. cruzi* que pueden infectar a 153 especies de triatomíneos pertenecientes a 5 tribus y 18 géneros (Téllez-Rendón *et al.*, 2023). La diversidad genética observada en las cepas podría implicar diferencias en las manifestaciones clínicas de la EC, así como diferencias en sus características biológicas, como son el grado de infectividad, virulencia (el grado de daño que causa un parásito a su hospedero), patogenicidad (capacidad de los parásitos para infectar un hospedero y causar enfermedad) capacidad antigénica y susceptibilidad o resistencia a las drogas tripanocidas (Acosta y López, 2013; Nielebock *et al.*, 2020; Vela *et al.*, 2021). El aislamiento e identificación de las DTU's de *T. cruzi*, que circulan en los diferentes ciclos de transmisión en una determinada región geográfica, siguen siendo relevantes porque permiten conocer la dinámica de transmisión del parásito (Acosta y López, 2003; Calvopina *et al.*, 2020; Tavares *et al.*, 2020).

Respecto a la supervivencia de los organismos infectados con *T. cruzi*, a lo largo del tiempo diversos estudios han demostrado diferencias significativas en la tasa de supervivencia de los organismos infectados según el genotipo de *T. cruzi*. En un estudio realizado por Vera-Mella, al infectar ratones con tripomastigotes sanguíneos, encontró que los animales de la cepa ACA se comportaron como altamente susceptibles a la infección, con un 100% de mortalidad antes de las tres semanas post infección, por el contrario, las cepas A.Sw y C57BL/6 se mostraron como resistentes sobreviviendo el 100% de los animales, pasados los 6 meses post infección (Vera-Mella 2005).

Durante un estudio realizado por Schneuer (2003) en donde inoculó a grupos de ratones con una cepa diferente de *T. cruzi* (Munantá, San Antonio y Tulahuén) se demostró una diferencia significativa en la supervivencia de los ratones. Por un lado, la letalidad alcanzada para los organismos infectados con las cepas San Antonio y Tulahuén fue del 100%, mientras que los infectados con la cepa Munantá solo tuvieron una letalidad del 10%.

Finalmente, también se ha atribuido al pleomorfismo natural que presenta *T. cruzi*, la diferencia en cuanto a la severidad de la enfermedad en el hospedero humano, así como en otros hospederos mamíferos, y se ha demostrado al estudiar sus aspectos biológicos, bioquímicos y moleculares (Guzmán-Marín, 1999; Silvestrini *et al.*, 2024). Las DTU son conjuntos de poblaciones que poseen una mayor relación genética entre ellas que con cualquier otra población, las maneras mediante la cual son identificadas

corresponden a marcadores comunes de tipo inmunológico, molecular o genético (Zingales *et al.*, 2009; Majeau *et al.*, 2021). Estos grupos están diseñados para el *T. cruzi* I al VI. Los DTU's se dividen en dos grandes linajes, considerados los más ancestrales; TcI con 350 pares de bases y TcII con 300 pares de bases, el linaje TcI es el más ampliamente distribuido en México, sin embargo, el linaje TcII es considerado el más diverso ya que engloba a los DTUs del II al VI (Espinoza *et al.*, 2010; Zingales *et al.*, 2012).

Aunque la caracterización de aislados de *T. cruzi* en México se encuentra en ciernes, Ramos *et al.* (2012) reportaron por primera vez la presencia de los DTUs TcII, TcIII, TcIV y TcV en México, con una frecuencia relativamente alta (13-27%). Por otro lado, García-López *et al.*, (2024) reportaron por primera vez en Oaxaca TcII y TcIV, en los últimos años se han realizado diversos estudios, demostrando ampliamente una gran diversidad de DTUs (Díaz-Valdez *et al* 2021; Moo-Millán *et al.*, 2023; Domínguez-Cruz *et al.*, 2024).

De modo que, se han encontrado diferencias significativas en el comportamiento de las unidades de tipificación discreta tanto *in vitro* como *in vivo*, lo que ha permitido describir potenciales implicaciones del vector en la modulación de la virulencia de los aislados (Guzmán-Marín, 1999; Moje-Rumi *et al.*, 2020; Velásquez-Ortiz, 2022; Silvestrini *et al.*, 2024). Lo expuesto anteriormente refuerza la importancia de caracterizar los aislados y conocer la diferencia entre el comportamiento de estos.

La severidad de la infección de *T. cruzi* se encuentra relacionada con el genotipo de este (Silvestrini *et al.*, 2024) por lo que resulta imperativo conocer si los aislados reportados anteriormente en la literatura coinciden con los encontrados en los Triatomíneos presentes en el Estado de Puebla, por lo que el objetivo principal es caracterizar y relacionar el aislado o aislados con el triatómino vector y su distribución de modo que puedan aportar información para implementar tratamientos específicos aumentando así su eficacia.

3 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son las DTU's que se encuentran naturalmente distribuidas en las especies de triatóminos infectados presentes en el estado de Puebla?

4 HIPÓTESIS

Considerando la diversidad de triatominos presentes en el estado de Puebla, así como la variabilidad en sus hábitos, factores asociados a los movimientos poblacionales, crecimiento de la mancha urbana y otras formas de antropización. Se espera que una vez analizados los aislados obtenidos de los triatomas infectados, se identifique la presencia de DTUs TcI y no TcI.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo general:

Realizar la caracterización molecular de los aislados de *Trypanosoma cruzi* en triatominos infectados obtenidos en localidades del estado de Puebla.

5.2 Objetivos específicos:

- Realizar la colecta de triatominos en áreas específicas del Estado de Puebla.
- Identificar triatominos infectados naturalmente con *Trypanosoma cruzi* en heces mediante microscopía óptica.
- Obtener aislados de *T. cruzi* a partir de triatominos infectados.
- Identificar molecularmente los aislados de *T. cruzi* mediante PCR específicos para los DTUs.

6 MÉTODOS

Lugar de estudio

El estado de Puebla se localiza en la superficie de escurrimiento de cuatro regiones hidrológicas: Pánuco, Tuxpan-Nautla y Papaloapan, pertenecientes a la vertiente hidrológica del Golfo de México; y la región del Balsas, posee una estructura definida en cuanto a la altitud a la que se encuentran las distintas partes del territorio con una

parte central constituyendo una planicie ubicada a más de 2 000 metros sobre el nivel del mar (msnm), enmarcada por dos cordilleras a las cuales pertenecen los volcanes más grandes del País (Herrera *et al.*, 2003). Los esfuerzos de colecta se dirigieron a aquellas regiones en donde históricamente se ha reportado la presencia de triatomíneos (Monteón *et al.*, 2005; Sosa-Jurado *et al.*, 2004; Sandoval-Ruiz *et al.*, 2008). Entre estos sitios se encuentra la Sierra Norte del estado de Puebla, que es una zona geográfica caracterizada por bosques de pino encino, y mesófilo de montaña, además de selva perennifolia y selva caducifolia (Guevara y Montalvo, 2015), posee un clima templado-subhúmedo, con una temperatura media anual de 18°C (INEGI 2000). Las condiciones ambientales en la Sierra Norte de Puebla resultan favorables para la presencia de *Triatoma dimidiata* (Sandoval-Ruiz *et al.*, 2008) y *Triatoma gerstaeckeri* (com pers Sandoval-Ruiz) como se ha demostrado gracias a muestreos previos.

La región geográfica de la Mixteca Poblana posee una flora dominada principalmente por selva baja caducifolia, selva baja caducifolia espinosa, vegetación xerófila, matorral con izotes, así como una vegetación secundaria consistente con la arbustiva arbórea. La temperatura promedio es de 23°C con precipitaciones pluviales que van de los 350 a los 800 mm al año (Hernández *et al.*, 2013), esta región se caracteriza por la convergencia de tres especies de triatomíneos, *T. bassolsae*, *T. pallidipennis* y *T. barberi* (Sandoval-Ruiz *et al.*, 2008; Zumaquero-Rios *et al.*, 2022), renombrada actualmente como *Hospesneotomae barberi*, (Paiva *et al.*, 2025)

La región del Valle de Atlixco se caracteriza por presentar un clima templado y subhúmedo con una temperatura media anual de 20 grados centígrados, posee una vegetación predominantemente conformada por bosques mixtos y de coníferas (INEGI, 2000). Es en esta región geográfica donde se ha confirmado la presencia de *H. barberi* y *T. pallidipennis* (Sandoval-Ruiz *et al.*, 2008).

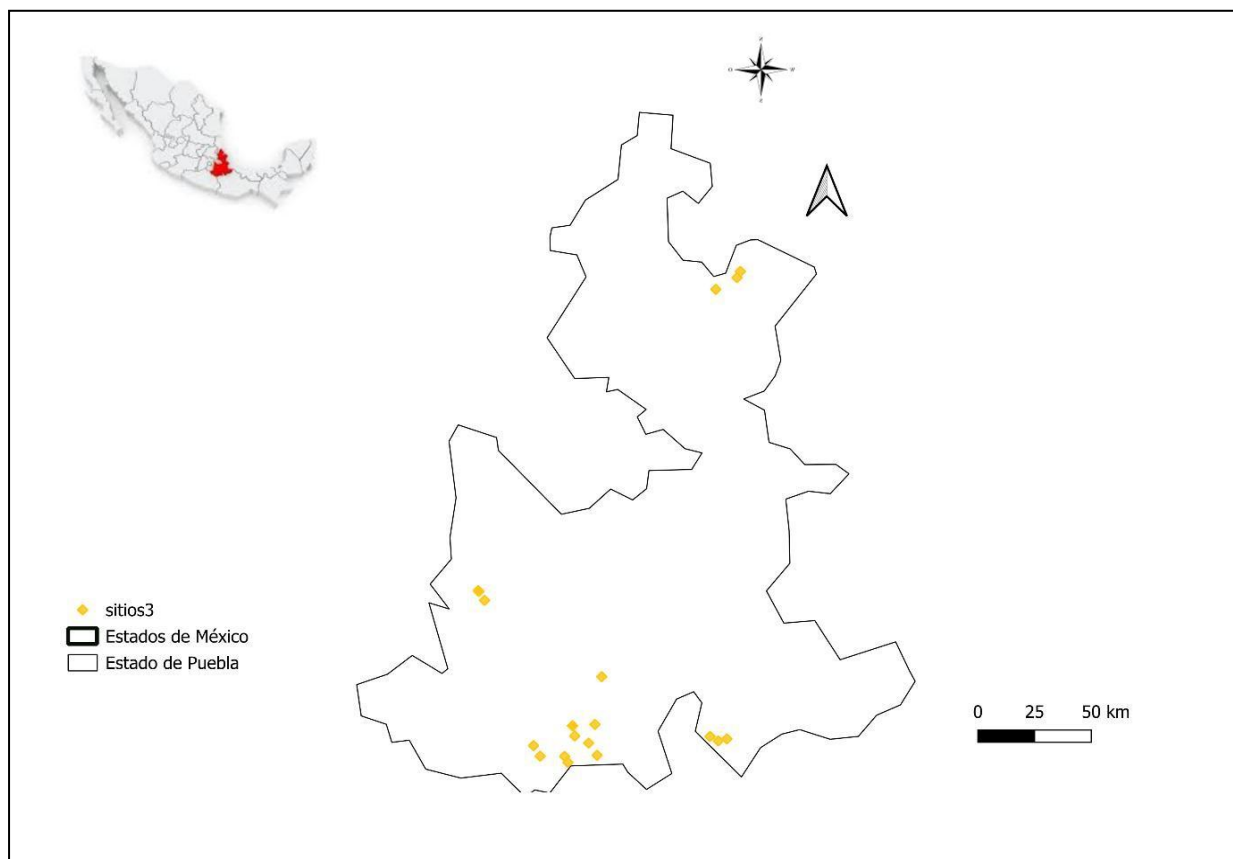


Figura. 1 Mapa del estado de Puebla, marcadas con rombos amarillos las zonas en las que fueron realizados los muestreos.

6.1 Colecta de triatominos

Los triatominos fueron capturados durante los meses de abril de 2024 a mayo de 2025, la metodología de búsqueda de triatominos se realizó de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2010, para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de enfermedades transmitidas por vector.

Durante la salida de campo, se realizó un muestreo dirigido a aquellas viviendas en donde los propietarios permitieron el acceso, una vez dentro de las viviendas fue rociado un agente irritante con el objetivo de expulsar a los triatominos de recovecos y grietas. Posteriormente, se procedió a capturar a los triatominos mediante el método de captura activa, con pinzas y lámpara, se colocaron en frascos de plástico transparente cubiertos con una malla fina y sellados con una liga, poniendo un círculo

de papel en el fondo del frasco y un acordeón de papel permitiendo que el organismo se refugie, los frascos fueron etiquetados con los datos de colecta.

En aquellos hogares en donde no se autorizó el acceso fueron dejados los frascos preparados para coleccionar a los triatominos, así mismo, se visitaron centros de salud en diferentes localidades, allí se procedió a explicar el proyecto, solicitando la participación de la comunidad (Llovet y Dinardi, 2014, Ramos *et al.*, 2014). Una vez obtenidos los triatominos fueron trasladados al Laboratorio de Artropodología y Salud en la Facultad de Ciencias Biológicas, en donde se realizó su identificación taxonómica utilizando los trabajos de Lent & Wygodzinsky (1979) y Téllez-Rendón *et al.*, 2023.

6.2 Diagnóstico parasitoscópico

Para determinar el índice de infección natural de la enfermedad se realizó el diagnóstico mediante microscopía óptica, con el fin de obtener muestras de heces el triatomo fue alimentado, una vez realizado lo anterior fue necesario esperar a que el insecto deyeccara, en cuanto fue obtenida la deyección se procedió a alicuotar con 50µl de solución PBS, pH 7.0. Finalmente, la muestra fue observado a 40x a través del microscopio óptico (Souza, 2009). En los casos de los triatominos muertos fue realizado un lavado intestinal con solución PBS y una jeringuilla de insulina para extraer el contenido intestinal del insecto.

6.3 Pruebas moleculares

Para elaborar la identificación y genotipificación de los aislados de *T. cruzi* presentes en los triatominos del estado de Puebla se trabajó con la técnica de reacción en cadena de polimerasa (PCR por sus siglas en inglés).

Con la finalidad de identificar la presencia del parásito fueron utilizados oligonucleótidos específicos (Tc1 5'-TTGAACGGCCCTCCCAAAC-3' y Tc2 5'-GATTGGGGTTGGTGAAATATA-3'), amplificando una secuencia de 235 pb. La mezcla de PCR consistió en: Tris-HCl 10mM a pH 9.0, 0.1% Tritón X-100, KCl 75 mM, MgCl₂ 2 mM, dNTP's (dinucleótidos trifosfatados) 0.1 mM, primers Tc1 y Tc2 20 pmoles para cada uno, 1 U (unidad) de enzima Taq DNA polimerasa Gold (Perkin-

Elmer), en un volumen final de reacción de 25 µl, mediante las siguientes condiciones de reacción: un paso de desnaturalización inicial a 94°C durante 3 min., 35 ciclos que consisten en una desnaturalización a 94°C por 1 min., un alineamiento a 55°C por 1 min. y una extensión a 72°C por 1 min. Al término de los ciclos se utilizó un paso adicional de extensión a 72°C durante 10 minutos. Los controles empleados fueron un DNA no relacionado y un control sin DNA. Como control positivo fue empleado DNA molde obtenido por calentamiento a partir de un cultivo de epimastigotes de *T. cruzi* de la cepa H1

La clave para discernir los linajes está dada por el tamaño de banda amplificado del espacio no transcrito del gen minixon: 350 pb para DTU TcI y 300 pb para las DTUs No-TcI (TcII, TcV y TcVI) sin amplificar las DTUs TcIII y TcIV, empleando oligonucleótidos específicos (TCC 5'- CCCCCCTCCCAGGCCACACTG-3', TC1 5'- GTGTCCGCCACCTCCTTCGGGCC-3' y TC2 5'-CCTGCAGGCACACGTGTGTGTG-3') (Souto *et al.*, 1996; Barnabé *et al.*, 2003; Salazar-Schettino *et al.*, 2005).

La mezcla de reacción de PCR se llevó a cabo en un volumen final de 25 µl conteniendo 1 U (unidad) de enzima Taq DNA polimerasa Gold (Perkin-Elmer), 20 pmol de cada primer, 0.1 mM de dNTP's (dinucleótidos trifosfatados), 2 mM de MgCl₂, 20-50 ng de DNA de lavado de vector, en amortiguador 1X, las condiciones de reacción consistieron en una desnaturalización inicial a 94°C por 5 min, 35 ciclos que consistieron en una desnaturalización a 95°C por 30 seg, un alineamiento a 60°C por 30 seg y una extensión a 72°C por 30 seg, al término de los ciclos se utilizó un paso adicional de extensión final a 72°C durante 5 min. Como controles se manejaron cultivos de epimastigotes de *T. cruzi* de las cepas de H1 y Y (linaje I y linaje II respectivamente).

Mientras que para genotipificar los DTUs correspondientes a TcII-TcVI se clasificaron mediante la amplificación por PCR del dominio divergente D7 del gen 24Sa rRNA con D71 y cebadores D72 utilizando los primers D71 (5' - AAG GTG CGT CGA CAG TGT GG) y D72 (5' – TTT TCA GAA TGG CCG AAC AGT) y del dominio de tamaño variable de la secuencia de ARNr 18S con cebadores V1 y V2 V1 (5' – CAA GCG GCT GGG TGG TTA TTC CA) y V2 (5' – TTG AGG GAA GGC ATG ACA CAT GT (Ramos-Ligonio *et al.*, 2012; Díaz-Valdez *et al.*, 2021).

La mezcla de reacción de PCR para la determinación de los linajes se llevó a cabo en un volumen final de 25 µl contiendo 1 U (unidad) de enzima Taq DNA polimerasa Gold (Perkin-Elmer), 20 pmol del oligonucleótido a utilizar, 0.1 mM de dNTP's (dinucleótidos

trifosfatados), 1.5 mM de MgCl₂, 20-50 ng de DNA de lavado de vector, en amortiguador 1X, las condiciones de amplificación aplicadas para el dominio divergente D7 del gen 24Sα rRNA consistieron en un paso de desnaturalización a 94°C por 1 min, un paso de alineamiento a 60°C por 1 min, un paso de extensión a 72°C por 1 min, los cuales se repitieron durante 30 ciclos, seguido de un paso de extensión final a 72°C por 5 min (Barnabé *et al.*, 2000). Para la caracterización del dominio de tamaño variable de la secuencia 18S rRNA las condiciones de amplificación consistieron en un paso de desnaturalización a 94°C por 1 min, un paso de alineamiento a 50°C por 1 min, un paso de extensión a 72°C por 1 min, repitiéndose dichos pasos durante 30 ciclos, seguido de un paso de extensión final a 72°C por 5 min (Souto *et al.*, 1996). Como control se manejó cultivo de epimastigotes de *T. cruzi* de las cepas Y (TcII) y Sumi3 (TcIV)

Los productos fueron separados por electroforesis en geles de agarosa al 2 %, para posteriormente ser visualizados con tinción de Bromuro de etidio bajo luz ultravioleta (Ramos-Ligonio *et al.*, 2012).

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Estudio de triatominos colectados en el estado de Puebla y su infección natural con *Trypanosoma cruzi*

Los muestreos fueron realizados en tres regiones biogeográficas del estado de Puebla tomando en consideración los resultados obtenidos por Sandoval-Ruiz *et al.*, 2008 (Fig.1) (Cuadro1).

Cuadro 1. Tiatomas capturados en el estado de Puebla, donde se incluye localidad de colecta, especie y resultados de individuos seropositivos.

Municipio	Altitud	Clima	Especie	Triatominos colectados	Triatominos positivos a <i>T. cruzi</i>
Xayacatlán de Bravo	1251 msnm	Cálido subhúmedo	<i>Triatoma bassolsae</i>	1	1
Totoltepec de Guerrero	1360 msnm	Cálido subhúmedo	<i>Triatoma bassolsae</i>	4	2
La Noria Chica	1312 msnm	Cálido subhúmedo	<i>Triatoma pallidipennis</i>	2	1

Galeana	780 msnm	Cálido subhúmedo	<i>Triatoma pallidipennis</i>	4	2
San Pablo	1187 msnm	Cálido subhúmedo	<i>Triatoma pallidipennis</i>	1	1
San Bernardo	1278 msnm	Cálido subhúmedo	<i>Triatoma pallidipennis</i>	1	1
La Huerta	1211 msnm	Cálido subhúmedo	<i>Triatoma pallidipennis</i>	3	2
Acatlán	1213 msnm	Cálido subhúmedo	<i>Triatoma pallidipennis</i> <i>Triatoma bassolsae</i>	12	6
Huatlatlauca	1564 msnm	Cálido subhúmedo	<i>Triatoma pallidipennis</i>	10	10
Tenancingo		Cálido subhúmedo	<i>Triatoma pallidipennis</i>	1	0
San Jerónimo Xayacatlán	1346 msm	Cálido subhúmedo	<i>Triatoma bassolsae</i>	1	0
Ayotoxco de Guerrero	301 msnm	Cálido húmedo	<i>Triatoma dimidiata</i>	2	2
San Antonio Rayón	148 msnm	Cálido húmedo	<i>Triatoma dimidiata</i>	1	0
Jonotla	994 msnm	Cálido húmedo	<i>Triatoma dimidiata</i>	1	1
Tecpantzingo	168 msnm	Cálido húmedo	<i>Triatoma dimidiata</i>	1	0
Ecatlán	627 msnm	Cálido húmedo	<i>Triatoma dimidiata</i>	1	1
Petlalcingo	1360 msnm	Cálido subhúmedo	<i>Triatoma pallidipennis</i>	1	0
Piaxtla	1057 msnm	Cálido subhúmedo	<i>Triatoma pallidipennis</i>	7	3
Huaquechula	1622 msnm	Cálido subhúmedo	<i>Triatoma pallidipennis</i>	14	13
San Diego Organal	1200 msnm	Cálido subhúmedo	<i>Triatoma pallidipennis</i>	10	7

			<i>Triatoma dimidiata</i>		
Tecomatlán	923 msnm	Cálido subhúmedo	<i>Triatoma pallidipennis</i>	1	0

Fueron capturados 79 triatominos, cincuenta y nueve de los individuos corresponden a la especie *T. pallidipennis*, ocho individuos fueron colectados en estado ninfal por lo que han sido identificados como *Triatoma spp.*, seis individuos fueron identificados como *T. bassolsae* y seis como *T. dimidiata*.

Aunque se ha reportado previamente la presencia de cuatro especies de triatominos en el estado de Puebla (Sandoval-Ruiz *et al.*, 2008; Zumaquero-Rios *et al.*, 2022) *T. pallidipennis*, *T. bassolsae*, *H. barberi* y *T. dimidiata*, y se tiene el conocimiento sobre la presencia de *Triatoma gerstaeckeri* (*com pers* Sandoval-Ruiz) en el norte del estado, en este estudio se encontraron tres de las cinco especies previamente mencionadas *T. pallidipennis*, *T. bassolsae* y *T. dimidiata*.

La especie *H. barberi* ha sido registrada anteriormente en el estado, principalmente en áreas de mayor altitud (Noguera-Torres *et al.*, 2000; Zavala *et al.*, 2006; Sosa-Jurado *et al.*, 2004; Sandoval-Ruiz *et al.*, 2008), sin embargo, no fue colectado ningún ejemplar de la especie durante este estudio, lo que podría estar asociado a los cambios de material de construcción usados en las zonas que fueron muestreadas, así como a una disminución de reservorios. Un estudio realizado por Carmona-Castro *et al.*, 2018, indica que *H. barberi* podría tener preferencia por viviendas construidas con materiales naturales como madera, o cartón, esta hipótesis se ve reforzada al observar los cambios reportados en el estudio de García-Mares *et al.*, 2022 quienes realizan dos periodos de muestreo con diez años de diferencia, documentando en el primer muestreo la presencia de *H. barberi* asociada al domicilio y peridomicilio. Sin embargo, durante el segundo periodo la presencia de esta especie fue nula en el área estudiada, reportando también que las viviendas estaban construidas con concreto y otros materiales no naturales, por lo que se hipotetiza que esto restringe la distribución de esta especie. Finalmente, en el estudio realizado por Zumaquero-Rios *et al.*, 2022 no fueron colectados ejemplares de esta especie a pesar de realizar muestreos en zonas donde anteriormente habían sido capturados.

Acorde a investigaciones realizadas sobre la biología del desarrollo de *H. barberi* (Villalobos *et al.*, 2019; Becerril-Flores *et al.*, 2024) se ha demostrado que la infección por *T. cruzi* afecta su desarrollo y supervivencia, reduciendo los procesos de ecdisis exitosa, lo que a su vez vincula las respuestas fisiológicas con la aptitud ecológica, la reducción de nicho ecológico y la competencia vectorial, de manera que la ausencia de *H. barberi* podría estar relacionada con los altos índices de infección natural reportados en las zonas en donde previamente había sido colectada.

Durante los muestreos se incentivó la participación comunitaria, esto debido a “La Respuesta mundial para el control de vectores 2017-2030” aprobada por la OMS que propone el uso de un enfoque integral, invitando a la población a participar como actores clave para generar cambios positivos en su salud de manera sostenible, por lo que, se realizaron pláticas informativas para la prevención de la enfermedad de Chagas, así como talleres para la identificación de los vectores presentes en su comunidad.

De los triatominos colectados sesenta y uno se obtuvieron gracias a la participación comunitaria, dando como resultado el 78.2% del total, mostrando que los pobladores poseen una alta disposición para coleccionar triatominos al interior de sus domicilios, debido a esto, podemos observar que la participación comunitaria desempeña un papel crucial en la captura y vigilancia de triatominos, aumentando la detección de posibles focos de infección.

Los enfoques que incluyen a los habitantes de comunidad como actores clave en la vigilancia entomológica han demostrado ser más sensibles y sostenibles a largo plazo que las búsquedas realizadas únicamente por profesionales de la salud, permitiendo que el monitoreo sea continuo, abarcando mayores escalas e identificando infestaciones estacionales (Dumonteil *et al.*, 2009; Bravo-Ramírez, 2018; Cortez *et al.*, 2019).

La participación comunitaria no solamente representa una mejora en la calidad de los datos obtenidos, también aumenta el conocimiento sobre la EC, volviéndose una forma de protección al generar comportamientos preventivos a la vez que fomentan la colaboración entre los actores de la comunidad y las autoridades sanitarias (Cortez *et al.*, 2019; Marti *et al.*, 2023).

7.2 Obtención de aislados de *Trypanosoma cruzi* a partir de triatominos infectados

Se obtuvieron las deyecciones del total de triatominos mediante dos métodos según si se encontraban vivos o muertos, encontrándose un total de 53 triatominos positivos a *T. cruzi* (Fig. 2) representando un índice de infección natural del 67.94%, mientras que el índice de domiciliación del total de triatominos corresponde al 75.64%.

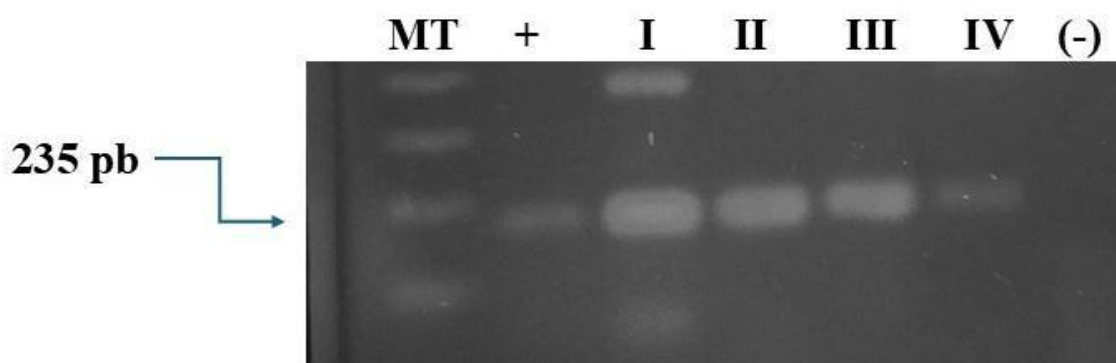


Figura. 2 Amplificación del fragmento específico de DNA de *T. cruzi* por PCR. Gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio. Marcadores de tamaño (MT) la flecha indica la presencia de un producto de amplificación de 235 pb específico de *T. cruzi*, Control positivo (+), muestras de vector positivo (I) (II) (III) (IV), control negativo sin DNA (-).

Triatoma pallidipennis es una especie que cuenta con amplia distribución en el territorio mexicano (Ramsey *et al.*, 2015; Dávila-Barboza *et al.*, 2020; Meraz-Medina *et al.*, 2024), esta especie ha sido reconocida por su alto éxito reproductivo (Alejandre-Aguilar 2023), y en diversos estudios ha sido la especie de triatomo con mayor incidencia (Zavala *et al.*, 2006; Salazar-Schettino *et al.*, 2010; Pineda-Rodríguez *et al.*, 2018; García-Mares *et al.*, 2022). Durante los muestreos realizados en este estudio fueron colectadas 59 triatominos correspondientes a la especie *T. pallidipennis* reportándose como la especie más abundante, concordando con lo reportado en estudios previos.

Al realizar las pruebas de detección de *T. cruzi*, 41 individuos pertenecientes a *T. pallidipennis* se encontraron parasitados, de modo que el índice de infección para esta especie es de 69.49%, lo que muestra un notorio aumento respecto al estudio realizado por Alejandre-Aguilar *et al.*, en 2023 quienes reportan infección del 17.8% en triatominos colectados en el estado de Hidalgo, también resulta notoriamente más elevado que el registrado por Zumaquero-Rios *et al.*, 2022 (33.33%), y el registrado por Bravo-Ramírez (40.9%) de infección natural en triatominos colectados en el estado de Puebla. Mientras que es consistente con lo presentando por Martínez-Ibarra *et al.*, 2011 y García-Mares *et al.*, 2022 quienes reportan un índice de infección de 60% y 79.7% en el estado de Morelos y Michoacán respectivamente.

El presente estudio aporta evidencia sobre los cambios en el comportamiento de los insectos transmisores de EC, del total de organismos identificados como *T. pallidipennis*, 46 se encontraron asociados al domicilio representando un índice de domiciliación de 77.96%, esto resulta concordante con lo propuesto por García-Mares et al., 2022 quienes resaltan el incremento de triatomíneos domiciliados en la zona oriente del estado de Morelos. El aumento en la tasa de incidencia de la enfermedad, así como en la domiciliación se encuentra relacionada con las condiciones de vida en los municipios donde fueron realizadas las colectas; durante este estudio se reportó un mayor número de triatomíneos infectados en Acatlán de Osorio, Huatlatlauca y Huaquechula. Se ha reportado la cría empírica de ganado (Maldonado-García, 2021) la presencia de animales domésticos situados en el peridomicilio incrementa el riesgo de transmisión de EC debido a que éstos son capaces de facilitar la obtención de alimento, además de actuar como reservorios para la enfermedad (Ramsey et al., 2005; Hoyos et al., 2007; Flores-Ferrer et al., 2019; Nascimento et al., 2019) El uso de leña como combustible es una práctica común en estos municipios, lo que puede contribuir al establecimiento de triatomíneos en el peridomicilio al actuar como refugio (Fig. 3).



Figura. 3 *T. pallidipennis* encontrada bajo leña destinada a ser usada como combustible (a) y ninfa de *T. pallidipennis* encontrada en suelo de cemento sin revocar (b).

Una de las razones que contribuyen al incremento de la domiciliación de *T. pallidipennis* se encuentra relacionada con la capacidad que ha demostrado como especie para adaptarse a materiales de construcción como cemento, bloque y ladrillo (Fig. 3b) (Ramsey et al., 2003; Alejandre-Aguilar et al., 2023). Aunado a su capacidad

para adaptarse a materiales de construcción no naturales, *T. pallidipennis* ha demostrado una relación positiva entre su tasa de reproducción y la fuente de alimentación; ya que al alimentarse de sangre de mamíferos presenta un mayor éxito reproductivo (Martínez-Ibarra *et al.*, 2023). Zumaquero-Rios *et al.*, 2022 sugieren que algunos triatomíneos capturados en Xayacatlán de Bravo, Puebla se encontraban atravesando un posible proceso de adaptación al domicilio, lo que resulta concordante con lo propuesto por Bravo-Ramírez., 2018, donde reporta un índice de colonización de 41.6% en el municipio de Acatlán, mientras que en el estudio realizado por García-Mares *et al.*, 2022 también reportan un incremento en la domiciliación de *T. pallidipennis* presentando incidencia del 64.44% dentro del domicilio en el estado de Hidalgo.

Triatoma bassolsae es una especie considerablemente menos abundante, se colectaron siete individuos, actualmente se considera restringida a una región específica entre la frontera de Puebla y Oaxaca (Antonio-Campos *et al.*, 2025) en donde comparte área de distribución con *T. pallidipennis* (Zumaquero-Rios *et al.*, 2022), durante este estudio se registró la presencia de esta especie en dos municipios donde no había sido colectada previamente, Acatlán de Osorio y Totoltepec de Guerrero.

Del total de *T. bassolsae* colectados, 4 se encontraron naturalmente infectados por lo que se reporta que el índice natural es de 57.14%, aunque los registros sobre la tasa natural de infección en esta especie son escasos, en el estudio realizado por Antonio-Campos *et al.*, 2025 fueron realizados una serie de experimentos en los que infectaron artificialmente una serie de ninfas de esta especie, demostrando ser altamente susceptible a la infección por *T. cruzi* alcanzando el 100% de infección en los sujetos de estudio.

El índice de domiciliación de esta especie fue de 85.71%, actualmente no existe información concluyente sobre los factores determinantes en las preferencias de refugio de *T. bassolsae*, por lo que resulta necesario realizar estudios que permitan comprender el comportamiento y ecología de esta especie.

Triatoma dimidiata es uno de los principales vectores de EC en América Latina, presenta una amplia diversidad genética y fenotípica, además de poder encontrarse en ecotopos selváticos, domésticos y sinantrópicos (Bargues *et al.*, 2008; Velásquez-Ortiz *et al.*, 2022) durante los muestreos realizados se colectaron 6 insectos que posteriormente fueron identificados como *T. dimidiata*, el bajo número de individuos

colectados podría tener una explicación multifactorial. En el municipio de Ayotoxco de Guerrero se registró una producción agrícola total de 30,575 toneladas de naranja, mandarina y maíz en el año 2022 según los datos de CEIGEP, considerando la agricultura como una de sus principales actividades económicas, los agricultores de este municipio se encuentran inscritos al programa “Campaña contra las plagas de



Figura. 4 Viviendas localizadas en el municipio de Ayotoxco de Guerrero y Jonotla respectivamente, construidas con materiales no naturales.

los cítricos” desde el año 2020 (SENASICA) dicho programa tiene como objetivo el control regional y atención de focos de infección mediante el uso de insecticidas, esto podría reducir la presencia de triatominos en el municipio. Mientras que en el municipio de Jonotla, se han realizado múltiples estudios (Sandoval-Ruiz *et al.*, 2004; Ciria *et al.*, 2020), particularmente en la comunidad de San Antonio Rayón, en ellos se ha observado una disminución en el número de ejemplares colectados. Sandoval-Ruiz *et al.*, 2004 colectaron un total de 338 individuos en un periodo de 70 días laborales, mientras que Ciria *et al.*, 2020 colectaron 29 individuos en un periodo de 30 días laborales, esta tendencia podría encontrarse relacionada con los altos índices de migración en la zona y de manera indirecta, las fumigaciones realizadas contra el mosquito *Aedes aegypti* (Ciria *et al.*, 2020) aunado a eso, podría ser resultado de las múltiples pláticas que se han realizado en la comunidad con la finalidad de prevenir la EC, aunque no es posible descartar un sesgo en el muestreo realizado, debido a la poca accesibilidad en la zona por lo que se sugiere seguir realizando monitoreos.

Diversos estudios recientes registran la infección natural que posee *T. dimidiata*, en diversos puntos de Centroamérica, el trabajo realizado en Jutiapa Guatemala registró

que la infección natural fue correspondiente al 26% (Juárez *et al.*, 2025), significativamente más baja que el 61% reportado en el norte de Belice (Caranci *et al.*, 2022). Por otro lado, en México también ha sido observado una variación entre los índices de infección natural de la enfermedad, Yucatán ha reportado una prevalencia del 15.2% (Moo-Millan *et al.*, 2023), en el estado de Veracruz la infección natural corresponde al 54.35% (Guzmán-Gómez *et al.*, 2021) mientras que en Puebla se han reportado tasas de infección natural del 18.40%, 37% y 75% (Sandoval-Ruiz *et al.*, 2004; Zavala *et al.*, 2006; Ciria *et al.*, 2020) respectivamente. Durante este estudio 4 de los individuos resultaron positivos a presencia de *T. cruzi* por lo que el índice de infección natural es del 80% lo que resulta concordante con lo reportado por Ciria *et al.*, 2020, sin embargo, debe ser tomado en consideración el número limitado de triatomíneos capturados.

Cinco de los *T. dimidiata* colectados se encontraron asociados al domicilio, por lo que el índice de domiciliación para esta especie es del 83.33%, esto también resulta concordante con lo reportado por Sandoval-Ruiz *et al.*, 2004 y Ciria *et al.*, 2020 corroborando que la alta plasticidad de esta especie le ha permitido adaptarse a los cambios en los materiales de construcción en la zona donde se distribuye (Fig. 3). Los principales riesgos de domiciliación se encuentran asociados a casas hechas de bloques de concreto sin revocar, o con agregados de madera (Sandoval-Ruiz *et al.*, 2014)

Se reporta por primera vez la presencia de *T. dimidiata* en la región del Valle de Atlixco lo que contrasta con estudios previos en donde mencionaban que esta especie se encontraba restringida a la Sierra Norte del Estado de Puebla (Sosa-Jurado *et al.*, 2004; Zavala *et al.*, 2006). El triatómino fue colectado en el municipio de Huaquechula a 1680 msnm (Cuadro 1) y temperatura media de 21.9°C, el rango potencial de altitud máxima corresponde a 1951 msnm mientras que el rango potencial de temperatura entre 16 a 24°C (Sandoval-Ruiz *et al.*, 2008) por lo que se considera que este municipio cuenta con las variables ambientales requeridas por la especie, concordando con el mapa de modelado de nicho realizado por Sandoval-Ruiz *et al.*, 2008. En diversos estudios se ha considerado la temperatura como un factor determinante en la distribución de *T. dimidiata* (Bustamante *et al.*, 2007; Badel-Mogollón *et al.*, 2017; García-Mares *et al.*, 2022; Moo-Millan *et al.*, 2023).

7.3 Identificación molecular de aislados de Trypanosoma cruzi mediante análisis de peso molecular del ADN

Las muestras positivas de triatomas cultivados *in vivo* fueron transportadas para su procesamiento al Laboratorio de Inmunología y Biología molecular (LADISER) en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Veracruzana campus Orizaba, fueron cultivadas en medio LIT adicionado con suero fetal bovino, permitiéndole al parásito crecer en condiciones óptimas para su desarrollo, esto con la finalidad de purificar las muestras obtenidas.

Finalmente, se realizaron PCRs mediante el uso de los marcadores 24Sα rRNA (Fig. 5), 18S rRNA (Fig. 6) y mini-exón (Fig. 7), encontrando que, de las cincuenta y tres muestras obtenidas cuarenta y tres corresponden al DTU TcI.

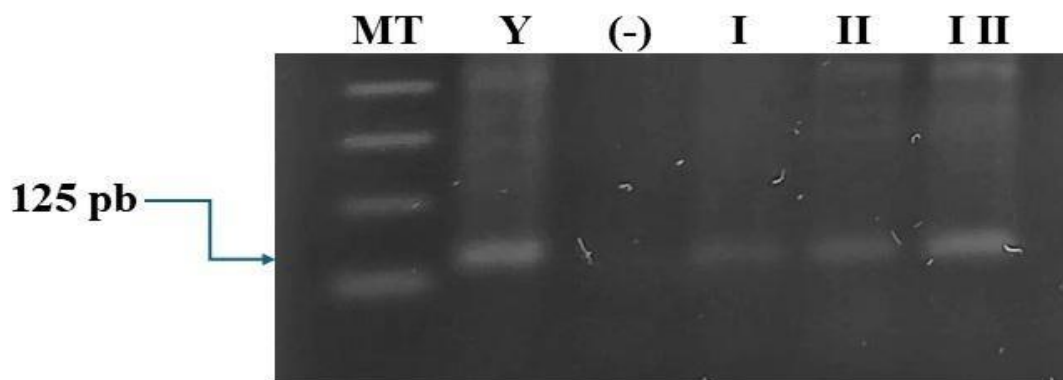


Figura. 5 Amplificación del fragmento específico del gen 24Sα rRNA de *T. cruzi* por PCR. Gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio. Marcadores de tamaño (MT) la flecha indica la presencia de un producto de amplificación de 125 pb específico de *T. cruzi*, Control positivo (Y), control negativo sin DNA (-), muestras de vector positivo (I) (II) (III).

Diversos estudios han demostrado que TcI es el DTU más abundante en el país (Pérez-España *et al.*, 2019; Díaz-Valdez *et al.*, 2021; Aké-Chan *et al.*, 2025), sin embargo, existen pocos reportes de Linaje II en México (Ramos-Ligonio *et al.*, 2012; Pech-May *et al.*, 2019; Murillo-Solano *et al.*, 2021; García-López *et al.*, 2024).

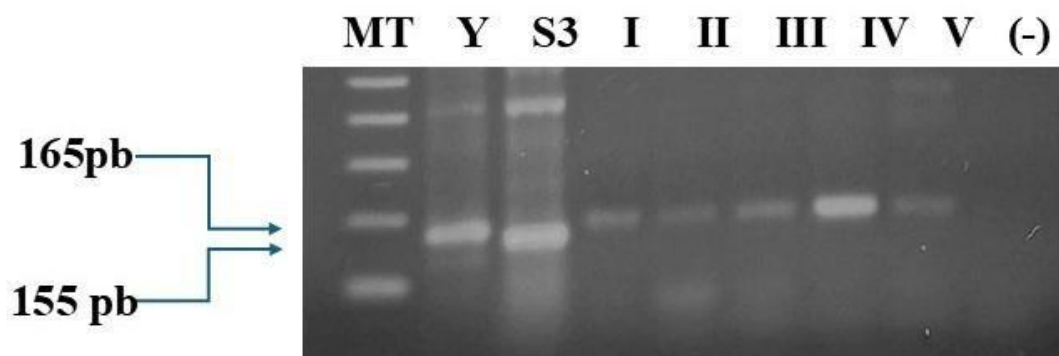


Figura. 6 Amplificación del fragmento específico del gen 18S rRNA de *T. cruzi* por PCR. Gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio. Marcadores de tamaño (MT) la flecha indica la presencia de un producto de amplificación de 165 pb y 155 pb específico de *T. cruzi*, Control positivo (Y) (S3), muestras de vector positivo (I) (II) (III) (IV), control negativo sin DNA (-).

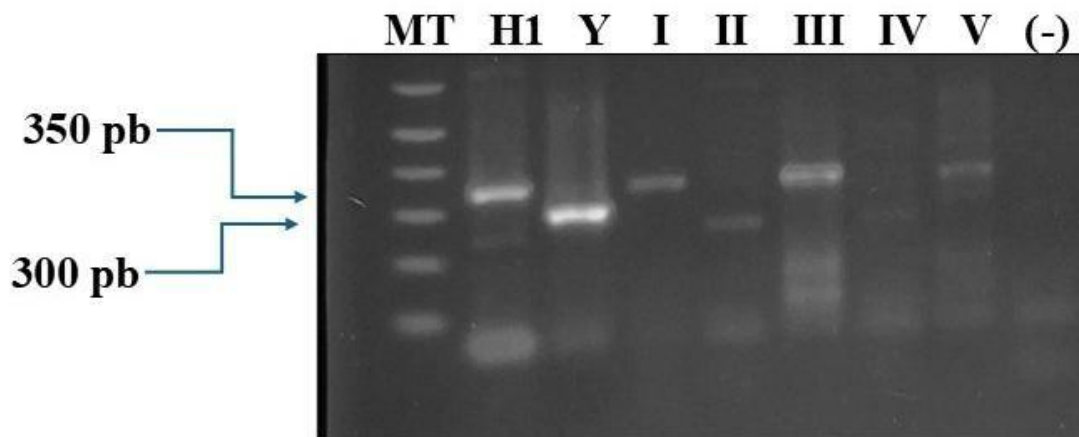


Figura. 7 Amplificación del fragmento específico del gen mini-exón .de *T. cruzi* por PCR. Gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio Marcadores de tamaño (MT) la flecha indica la presencia de un producto de amplificación de 350 pb y 300 pb específico de *T. cruzi*, Control positivo (H1) (Y), muestras de vector positivo (I) (II) (III) (IV) (V), control negativo sin DNA (-).

Aunque hasta ahora, en el estado de Puebla solo había sido reportado TcI (Zumaquero-Rios *et al.*, 2022) durante este estudio también fue posible encontrar 15 muestras correspondientes al linaje II en aislados con infecciones mixtas en la zona de la Mixteca poblana y Valle de Atlixco.

Previamente se ha relacionado la presencia de aislados mixtos con triatomíneos selváticos y peridomiciliados (Díaz-Valdez *et al.*, 2021), durante un estudio realizado por Murillo-Solano *et al.*, 2021, en el que se identificaron las fuentes alimenticias de los triatomíneos fue señalada sangre de tlacuaches (*Didelphis*), mapaches (*Procyon*), y ardillas (*Sciurus*), al alimentarse el triatómino de mamíferos silvestres permite que actúen como reservorios de *T. cruzi*, circunstancias que propician la formación de aislados mixtos (Abolis *et al.*, 2011). Por otro lado, el crecimiento desmedido de la mancha urbana propicia el contacto de poblaciones humanas con animales silvestres (Fig.8), aunado a la alta plasticidad demostrada por los triatomíneos para adaptarse a las viviendas humanas se evidencia la necesidad de estudiar la ecología de los triatomíneos (Dumonteil *et al.*, 2018), así como la importancia de realizar estudios de seguimiento epidemiológico (Gürtler & Yadon., 2015).



Figura. 8 Punto de acceso a domicilios encontrados en la periferia del municipio de Piaxtla

8. CONCLUSIÓN

El acelerado crecimiento de la mancha urbana ha permitido que los humanos se encuentren en contacto con vectores de EC, aunado a ello la capacidad de algunos de estos vectores para adaptarse a ambientes antropizados ha generado un incremento en los índices de domiciliación, aumentando así el riesgo de contraer la EC.

Previamente en el estado de Puebla solo había sido reportado el DTU TcI, mientras que en este estudio se registran DTUs pertenecientes al linaje II así como aislados mixtos, esto podría implicar cambios considerables en la manifestación de EC, por lo que es necesario implementar programas de vigilancia entomológica y médica en aquellas regiones con mayor presencia de triatominos.

Este trabajo ha demostrado que establecer vínculos con el personal de salud y los habitantes de las comunidades que se pretende estudiar no solo mejora la calidad de muestras si no que permite establecer de manera sustentable programas de vigilancia entomológica.

9 PERSPECTIVAS FUTURAS

Es importante realizar seguimiento en el muestreo de triatominos, manteniendo un enfoque en la participación comunitaria, de manera que podamos crear un sistema de muestreo sustentable y a largo plazo, mediante la cultura de la prevención, una reducción en las poblaciones de triatominos asociados a los domicilios.

10 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abolis, N. G., De Araujo, S. M., de Ornelas Toledo, M. J., Fernandez, M. A., & Gomes, M. L. (2011). *Trypanosoma cruzi* I–III in southern Brazil causing individual and mixed infections in humans, sylvatic reservoirs and triatomines. *Acta Tropica*, 120(3), 167-172.
- Abras, A., Ballart, C., Fernández-Arévalo, A., Pinazo, M. J., Gascón, J., Muñoz, C., & Gállego, M. (2022). Worldwide control and management of Chagas disease in a new era of globalization: a close look at congenital *Trypanosoma cruzi* infection. *Clinical microbiology reviews*, 35(2), e00152-21.
- Acosta, N., y López, E. (2013). Cepas de *Trypanosoma cruzi* en el Paraguay: *Trypanosoma cruzi* strains in Paraguay. *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*, 11(2), 78-89.
- Andrade, S. G. (1974) Caracterização de cepas do *Trypanosoma cruzi* isoladas no Recôncavo Baiano. *Revista de Patología Tropical.*, 1 65-121.
- Antinori, S., Galimberti, L., Bianco, R., Grande, R., Galli, M., & Corbellino, M. (2017). Chagas disease in Europe: a review for the internist in the globalized world. *European Journal of Internal Medicine*, 43, 6-15.
- Antonio-Campos, A., Ramírez-Moreno, E., Sánchez-Cordero, V., Rivas, N., & Alejandre-Aguilar, R. (2025). Variability in *Trypanosoma cruzi* susceptibility among species of kissing bugs (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Mexico. *Folia Parasitologica*, 72, 011.
- Aké-Chan, M., Sanmartino, M., Castillo-Burguete, M. T., González-Martínez, A., & Ibarra-Cerdeña, C. N. (2025). (In) coherence between Chagas disease policy and the experiences of those affected in Mexico: The need for a

transdisciplinary approach. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 19(5), e0013052.

- Alejandro-Aguilar, R., Antonio-Campos, A., Noguez-García, J., & Rivas, N. (2023). *Triatoma pallidipennis* (Stål, 1872) (Hemiptera: Reduviidae) and its potential for infestation in Tecozautla, Hidalgo state, Mexico. *Journal of Vector Ecology*, 48(1), 1-6.
- Arnal, A., Waleckx, E., Rico-Chávez, Ó., Herrera, C., & Dumonteil, E. (2019). Estimating the current burden of Chagas disease in Mexico: A systematic review and meta-analysis of epidemiological surveys from 2006 to 2017. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 13(4), e0006859.
- Atías, A. (1991). Enfermedad de Chagas. En: Atías A., Atp, W. Parasitología Clínica. 3ª edición. Editorial Mediterráneo. Santiago
- Badel-Mogollon, J., Rodriguez-Figueroa, L., & Parra-Henao, G. (2017). Spatio-temporal analysis of the biophysical and ecological conditions of *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in the northeast region of Colombia. *Biomedica*, 37, 106-123.
- Bargues, M. D., Klisiowicz, D. R., Gonzalez-Candelas, F., Ramsey, J. M., Monroy, C., Ponce, C., & Mas-Coma, S. (2008). Phylogeography and genetic variation of *Triatoma dimidiata*, the main Chagas disease vector in Central America, and its position within the genus *Triatoma*. *PLoS neglected tropical diseases*, 2(5), e233.
- Barnabé, C., Brisse, S., & Tibayrenc, M. (2000). Population structure and genetic typing of *Trypanosoma cruzi*, the agent of Chagas disease: a multilocus enzyme electrophoresis approach. *Parasitology*, 120(5), 513-526.
- Beatty, N. L., & Klotz, S. A. (2020). Autochthonous Chagas disease in the United States: how are people getting infected?. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 103(3), 967.
- Becerril-Flores, M. A., Benítez-Hernández, A. K., Santos-Castañeda, A., Tovar-Tomás, M. D. R., & Molina-Trinidad, E. M. (2024). Development and survival of *Triatoma barberi* and *Triatoma longipennis* (Hemiptera: Reduviidae) is affected by *Trypanosoma cruzi* colonization. *Revista Colombiana de Entomología*, 50(1).

- Bern, C., Messenger, L. A., Whitman, J. D., & Maguire, J. H. (2019). Chagas disease in the United States: a public health approach. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(1), 10-1128.
- Bianchi, T. F., Jeske, S., Grala, A. P. D. P., Leon, I. F. D., Bedin, C., Mello, F. D., & Villela, M. M. (2021). Current situation of Chagas disease vectors (Hemiptera, Reduviidae) in Southern Rio Grande do Sul State, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 63, e47.
- Browne, A. J., Guerra, C. A., Alves, R. V., Da Costa, V. M., Wilson, A. L., Pigott, D. M., ... & Moyes, C. L. (2017). Corrigendum: The contemporary distribution of *Trypanosoma cruzi* infection in humans, alternative hosts and vectors. *Scientific Data*, 4, 170071.
- Bustamante, D. M., Monroy, M. C., Rodas, A. G., Juarez, J. A., & Malone, J. B. (2007). Environmental determinants of the distribution of Chagas disease vectors in south-eastern Guatemala. *Geospatial Health*, 1(2), 199.
- Burdino, E., Bernardi, A., Cerutti, F., Di Vincenzo, A., Faraoni, S., Gregori, G., & Ghisetti, V. (2025). Invisible burden: Prevalence of Chagas disease in Latin American migrants in Turin, North-Western Italy—A STROBE compliant-cross-sectional study. *Parasitology International*, 104, 102988.
- Buscaglia, C. A., & Di Noia, J. M. (2003). *Trypanosoma cruzi* clonal diversity and the epidemiology of Chagas' disease. *Microbes and Infection*, 5(5), 419-427.
- Calvopina, M., Segovia, G., Cevallos, W., Vicuña, Y., Costales, J. A., & Guevara, A. (2020). Fatal acute Chagas disease by *Trypanosoma cruzi* DTU TcI, Ecuador. *BMC Infectious Diseases*, 20, 1-5.
- Campbell, D. A., Westenberger, S. J., & Sturm, N. R. (2004). The determinants of Chagas disease: connecting parasite and host genetics. *Current Molecular Medicine*, 4(6), 549-562.
- Campos, C., Carranza, F., Suárez, L., Salinas, P., Cabrera, R., & Vega, E. (2001). Muerte súbita por cardiomiopatía chagásica en un área no endémica de Ica,

Perú. *Revista Peruana Enfermedades e Infecciones Tropicales*, 1 (2): 92 – 95

- Caranci, A. T., Grieco, J. P., Achee, N. L., Hoel, D. F., Bautista, K., King, R., & Olsen, C. H. (2022). Distribution of *Triatoma dimidiata* sensu lato (Reduviidae: Triatominae) and risk factors associated with household invasion in Northern Belize, Central America. *Journal of Medical Entomology*, 59(2), 764-771.
- Carmona-Castro, O., Moo-Llanes, D. A., & Ramsey, J. M. (2018). Impact of climate change on vector transmission of *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) in North America. *Medical and veterinary entomology*, 32(1), 84-101.
- Carranza-Sierra, C. (2001). Palinoestratigrafía del Grupo Balsas: Implicaciones Paleoambientales, Climáticas y Cronoestratigráficas en Dos Municipios del Estado de Puebla. [Tesis para obtener el título de Licenciado en Biología] Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ciencias, México.
- Catalá, S. S., Noireau, F., & Dujardin, J. P. (2017). Biology of triatominae. In *American Trypanosomiasis Chagas Disease* (pp. 145-167). Elsevier.
- Chagas, C. (1909). Nova tripanozomíaze humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1, 159-218.
- Chao, C., Leone, J. L., & Vigliano, C. A. (2020). Chagas disease: Historic perspective. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1866(5), 165689.
- Chico-Avelino, M., López-Mejía, A., Ramos-Frías, J., Villafuentes-Téllez, H. A., Menchaca-Armenta, I., Montoya-Ayala, R., & Manning-Cela, R. G. (2022). Synanthropic triatomines in Hidalgo state, Mexico: Spatial-temporal distribution, domestic transmission cycle, and natural infection with *Trypanosoma cruzi*. *Acta Tropica*, 234, 106618.
- Ciria, C. J., Centeno, A., Rodríguez, J. C., Zumaquero-Ríos, J. L., & Sarracent-Pérez, J. (2020). Seroprevalence of Chagas disease and associated risk factors in the municipality of San Antonio Rayon, Jonotla, Puebla, Mexico. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*, 19(2), 21-35.
- Contreras, V., Córdova, A., Fernández, K., Fernández, A., De Lima, A. R., & Domínguez, M. I. (2009). Abordaje metodológico para estudiar la

Epimastigogénesis in vivo de *Trypanosoma cruzi* en triatominos. *Acta Científica Venezolana*, 60(1)

Cortez, M. R., Pinazo, M. J., Pinto, J., Anzoleaga, H. M., Caballero, Y. E., Urioste, G. S., & Torrico, F. (2019). Entomological surveillance with community engagement at Chagas Platform Centers for comprehensive care in the mesothermal valleys of three regions of the endemic area of *Triatoma infestans* in Bolivia. 17 December 2019, PREPRINT (Version 1) available at Research Square

Davila-Barboza, J. A., Saucedo-Montalvo, M. C., Favela-Lara, S., Ponce-Garcia, G., Fernandez-Salas, I., Quiroz-Martinez, H., & Flores, A. E. (2020). Morphological and genetic relation in hybrids of Triatomines (Hemiptera: Reduviidae) of the phyllosoma Complex from Mexico. *Annals of the Entomological Society of America*, 113(5), 398-406.

De Alba-Alvarado, M. C., Torres-Gutiérrez, E., Reynoso-Ducoing, O. A., Zenteno-Galindo, E., Cabrera-Bravo, M., Guevara-Gómez, Y., ... & Bucio-Torres, M. I. (2023). Immunopathological mechanisms underlying cardiac damage in chagas disease. *Pathogens*, 12(2), 335.

De Fuentes-Vicente, J. A., Vidal-López, D. G., Flores-Villegas, A. L., Moreno-Rodríguez, A., De Alba-Alvarado, M. C., Salazar-Schettino, P. M., & Gutiérrez-Cabrera, A. E. (2019). *Trypanosoma cruzi*: A review of biological and methodological factors in Mexican strains. *Acta tropica*, 195, 51-57.

De Paiva, V. F., de Oliveira, J., Belintani, T., Galvão, C., Gil-Santana, H. R., & da Rosa, J. A. (2025). *Hospesneotomae* n. gen. of the Triatomini tribe presents a turnaround in the taxonomy of the *Triatoma protracta* species complex. *Scientific Reports*, 15(1), 8143.

De Sousa, A. S., Vermeij, D., Ramos, A. N., & Luquetti, A. O. (2024). Chagas disease. *The Lancet*, 403(10422), 203-218.

De Souza, W. (2009). Structural organization of *Trypanosoma cruzi*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104 (suppl 1), 89-100.

Díaz-Valdez, J., Martínez, I., Rodríguez-Moreno, A., Gutiérrez-Granados, G., León-Villegas, R. G., Sánchez-Cordero, V., Fraga-Nodarse, J., Ángeles-Chimal, J., & Espinoza, B. (2021). Multiple discrete typing units of *Trypanosoma cruzi* infect sylvatic *Triatoma dimidiata* and *Panstrongylus rufotuberculatus* in

Southeast Mexico. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 105(4), 1042.

Domínguez-Cruz, D. C., Velázquez-Ramírez, D. D., Olivo-Vidal, Z. E., Fuentes-Vicente, J. A. D., & Ochoa-Díaz-López, H. (2024). First report of mixed *Trypanosoma cruzi* discrete typing units infection in *Triatoma phyllosoma* in the peri-urban environment of Oaxaca, Mexico. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 57, e00703-2024.

Dujardin, J. P., Forgues, G., Torrez, M., Martínez, E., Córdoba, C., & Gianella, A. (1998). Morphometrics of domestic *Panstrongylus rufotuberculatus* in Bolivia. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 92(2), 219–228. doi:10.1080/00034983.1998.11813283

Dujardin, J. P., Panzera, P., & Schofield, C. J. (1999). Triatominae as a model of morphological plasticity under ecological pressure. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94, 223-228.

Dumonteil, E., Ramirez-Sierra, M. J., Ferral, J., Euan-Garcia, M., & Chavez-Nuñez, L. (2009). Usefulness of community participation for the fine temporal monitoring of house infestation by non-domiciliated triatomines. *Journal of Parasitology*, 95(2), 469-471.

Dumonteil, E., Ramirez-Sierra, M. J., Pérez-Carrillo, S., Teh-Poot, C., Herrera, C., Gourbière, S., & Waleckx, E. (2018). Detailed ecological associations of triatomines revealed by metabarcoding and next-generation sequencing: implications for triatomine behavior and *Trypanosoma cruzi* transmission cycles. *Scientific reports*, 8(1), 4140.

Duque Montoya, D., y Ospina Ríos, J. P. (2021). Enfermedad de Chagas y sus manifestaciones neurológicas. *Acta Neurológica Colombiana*, 37(1), 154-162.

Espinoza, B., Rico, T., Sosa, S., Oaxaca, E., Vizcaíno-Castillo, A., Caballero, M. L., y Martínez, I. (2010). Mexican *Trypanosoma cruzi* (TCI) strains with different degrees of virulence induce diverse humoral and cellular immune responses in a murine experimental infection model. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 1-10.

Flores-Ferrer, A., Waleckx, E., Rascalou, G., Dumonteil, E., & Gourbière, S. (2019). *Trypanosoma cruzi* transmission dynamics in a synanthropic and

- domesticated host community. *PLoS neglected tropical diseases*, 13(12), e0007902.
- Frade, A. F., Guérin, H., Nunes, J. P. S., Silva, L. F. S. E., Roda, V. M. D. P., Madeira, R. P., ... & Cunha-Neto, E. (2025). Cardiac and Digestive Forms of Chagas Disease: An Update on Pathogenesis, Genetics, and Therapeutic Targets. *Mediators of Inflammation*, 2025(1), 8862004.
- Galindo Serrano, J. A., y Alcántara Ayala, I. (2015). Inestabilidad de laderas e infraestructura vial: análisis de susceptibilidad en la Sierra Nororiental de Puebla, México. *Investigaciones Geográficas*, (88), 122-145.
- Ramírez-Hernández, G., Mas, J. F., y Ramsey, J. M. (2020). Patrones espaciales asociados a la infestación comunitaria por vectores de la enfermedad de Chagas. *Revista cartográfica*, (100), 41-59.
- García-López, C., Santos-Hernández, N. G., Gutiérrez-Jiménez, J., Vidal-López, D. G., Moreno-Rodríguez, A., Gutiérrez-Cabrera, A. E., & De Fuentes-Vicente, J. A. (2024). Identification of Discrete Typing Units of *Trypanosoma cruzi* Isolated from Domestic Environments in Southeastern Mexico. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 24(3), 172-176.
- García-Mares, J. I., González-Acosta, C., Peralta-Rodríguez, J., Correa-Morales, F., Barón-Olivares, H., y Moreno-García, M. (2022). Incremento de incidencia intradomiciliar de triatomíneos y prevalencia de *Trypanosoma cruzi* en el Centro de México. *Acta zoológica mexicana*, 38.
- García Zapata, M. T. A., & Marsden, P. D. (1994). Enfermedad de Chagas: control y vigilancia con insecticidas y participación comunitaria en Mambá, Goiás, Brasil. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana* (OSP); 116 (2), feb. 1994.
- Guevara Romero, M. L., y Montalvo Vargas, R. (2015). Cambio de uso de suelo y vegetación derivados de la dotación de infraestructura: Sierra norte del Estado de Puebla. *Nova Scientia*, 7(13), 314-336.
- Guhl, F. (2000). Enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana. *Medicina*, 22(2), 89-95.
- Guhl, F., Jaramillo, C., Vallejo, G. A., Cardenas, A., Arroyo, F., & Aufderheide, A. (2000). Chagas disease and human migration. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95, 553-555.

- Guhl, F. (2009). Enfermedad de Chagas: Realidad y perspectivas. *Revista Biomédica*, 20(3), 228-234.
- Gürtler, R. E., & Yadon, Z. E. (2015). Eco-bio-social research on community-based approaches for Chagas disease vector control in Latin America. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 109(2), 91-98.
- Guzmán-Gómez, D., Salas-González, G., López-Monteon, A., Welsh-Rodríguez, C. M., Torres-Montero, J., Dumonteil, E., & Ramos-Ligonio, A. (2021). Risk factors for infestation by *Triatoma dimidiata* in a rural locality of Veracruz, Mexico, with active transmission of *Trypanosoma cruzi*: Weather and rain as factors. *Tropical Medicine & International Health*, 26(8), 916-926.
- Guzmán-Marín, E., Zavala-Castro, J., Acosta-Viana, K. Y., y Rosado-Barrera, M. E. (1999). Importancia de la caracterización de cepas de *Trypanosoma cruzi*. *Revista Biomédica*, 10(3), 177-184.
- Haro Al. (2003). Algunos hechos históricos relacionados con la enfermedad de Chagas. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*. 50(2):109-112.
- Hernández, J., Camacho, J. C., Franco, F., García, F., Romero, S., y EB, O. V. (2013). La unidad de producción familiar caprina: promotora del avance socioeconómico en la Mixteca Poblana, México. *Revista Colombiana de Ciencia Animal-RECIA*, 5(2), 358-365.
- Hernández, S. H., Batatz, E. R., y Peralta, A. R. (2016) Identificación de linajes TcI y TcII de *Trypanosoma cruzi* presente en triatominos (Hemiptera: Reduviidae) de la localidad de Chilpancingo de los Bravo, Guerrero. *Tlamati sabiduría*. 7
- Herrera, L. G., Morales, M. J. C., y Mendoza, E. O. O. (2003). Regiones naturales y de planeación para el estado de Puebla. *Análisis económico*, 18(37), 257-296.
- Hodo, C. L., & Hamer, S. A. (2017). Toward an ecological framework for assessing reservoirs of vector-borne pathogens: wildlife reservoirs of *Trypanosoma cruzi* across the southern United States. *ILAR journal*, 58(3), 379-392.
- INEGI. (2000) Síntesis geográfica del estado de Puebla
- INEGI. (2020) Población rural y urbana

- Jurberg, J. & Galvão, C. (2006) Biology, Ecology, and Systematics of Triatominae (Heteroptera, Reduviidae), Vectors of Chagas Disease, and Implications for Human Health. *Denisia* 19, zugleich Kataloge der OÖ. Landesmuseen Neue Serie, 50, 1096-1116. <http://www.biologiezentrum.at>
- Klotz, S. A., Smith, S. L., & Schmidt, J. O. (2021). Kissing bug intrusions into homes in the Southwest United States. *Insects*, 12(7), 654.
- Lent, H., & Wygodzinsky, P. W. (1979). Revision of the triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 163(3), 123-520.
- Lidani, K. C. F., Andrade, F. A., Bavia, L., Damasceno, F. S., Beltrame, M. H., Messias-Reason, I. J., & Sandri, T. L. (2019). Chagas disease: from discovery to a worldwide health problem. *Frontiers in public health*, 7, 166.
- Llovet, I., y Dinardi, G. (2014). Etnicidad, participación social y re-infestación de viviendas en el chaco argentino: un enfoque de Ecosalud de la enfermedad de Chagas. *Espacio Abierto*, 23(2), 305-324.
- López-García, A., & Gilabert, J. A. (2023). Oral transmission of Chagas disease from a One Health approach: A systematic review. *Tropical Medicine & International Health*, 28(9), 689-698.
- Lorenzo, M. G., Lazzari, C. R., & Barrozo, R. B. (2025). Beyond blood: the flexibility of triatomine bug food search and recognition. *Current Opinion in Insect Science*, 68, 101301.
- Lozano, N., Lloret-Sos, C., Giménez-Martí, M. J., Sahuquillo-Arce, J. M., Gómez-Ruiz, M. D., Trelis, M., & Calabuig, E. (2024). Epidemiology and clinical description of Chagas disease in Valencia, Spain, from 2010 to 2020. *Acta Tropica*, 260, 107458.
- Macedo, A. M., Oliveira, R. P., & Pena, S. D. (2002). Chagas disease: role of parasite genetic variation in pathogenesis. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 4(5), 1-16.
- Majeau, A., Murphy, L., Herrera, C., & Dumonteil, E. (2021). Assessing *Trypanosoma cruzi* parasite diversity through comparative genomics: implications for disease epidemiology and diagnostics. *Pathogens*, 10(2), 212.
- Maldonado García, J. (2021). Saberes tradicionales y transición agroecológica en la Mixteca Poblana. *Carta económica regional*, 34(128), 127-150.

- Maldonado, M., Vera de Bilbao, N., Samudio, M., Schinini, A., Acosta, N., Lòpez, E., & Rojas de Arias, A. (1997). Tratameinto con benznidazol en niños de seis a doce años infectados con *T. cruzi*. *Bv saude*
- Marti, G. A., Dibene, B. M., Balsalobre, A., Vicente, M. E., Bruni, E. A., Cocheró, J., & Ceccarelli, S. (2023). GeoVin - a project with technological innovation and community participation for the comprehensive approach to Chagas disease and triatomines (Hemiptera: Reduviidae): GeoVin - un proyecto con innovación tecnológica y participación comunitaria para el abordaje integral del Chagas y los triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Revista De La Sociedad Entomológica Argentina*, 82(4), 78–83.
- Martínez-Ibarra, J. A., Noguera-Torres, B., Montañez-Valdez, O. D., & Michel-Parra, J. G. (2023). Influence of blood meal source on the biological parameters of *Triatoma pallidipennis* (Heteroptera: Reduviidae) from Mexico. *Medical and Veterinary Entomology*, 37(1), 124-131.
- Martínez-Ibarra, J. A., Valencia-Navarro, I., León-Saucedo, S., Ibáñez-Cervantes, G., Bustos-Saldaña, R., Montañez-Valdez, O. D., & Noguera-Torres, B. (2011). Distribution and infection of triatomines (Hemiptera: Reduviidae) by *Trypanosoma cruzi* in the state of Michoacán, Mexico. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 106, 445-450.
- Messenger, L. A., Miles, M. A., & Bern, C. (2015). Between a bug and a hard place: *Trypanosoma cruzi* genetic diversity and the clinical outcomes of Chagas disease. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 13(8), 995-1029.
- Meraz-Medina, T., Grant-Guillén, Y., Mercado-Trujillo, J. R., Noguera-Torres, B., & Martínez-Ibarra, J. A. (2024). Behavioral and biological parameters of six populations of *Triatoma pallidipennis* (Heteroptera: Reduviidae) from areas with high and low prevalence rates of *Trypanosoma cruzi* human infection. *Acta Tropica*, 107259.
- Miles, M. A., Tøye, P. J., Oswald, S. C., & Godfrey, D. (1977). The identification by isoenzyme patterns of two distinct strain-groups of *Trypanosoma cruzi*, circulating independently in a rural area of Brazil. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 71(3), 217-225.
- Monje-Rumi, M. M., Floridia-Yapur, N., Zago, M. P., Ragone, P. G., Brandán, C. P., Nuñez, S., & Diosque, P. (2020). Potential association of *Trypanosoma*

- cruzi DTUs TcV and TcVI with the digestive form of Chagas disease. *Infection, Genetics and Evolution*, 84, 104329.
- Monteón, V. M., Reyes-López, P. A., Sosa-Palacio, A., León-Tello, G., Martínez-Murguía, J., y Sosa-Jurado, F. (2005). *Trypanosoma cruzi*. *salud pública de méxico*, 47(2).
- Montes de Oca-Aguilar, A. C., González-Martínez, A., Chan-González, R., Ibarra-López, P., Smith-Ávila, S., Córdoba-Aguilar, A., & Ibarra-Cerdeña, C. N. (2022). Signs of urban evolution? Morpho-functional traits co-variation along a nature-urban gradient in a Chagas disease vector. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10, 805040.
- Montgomery, S. P., Parise, M. E., Dotson, E. M., & Bialek, S. R. (2016). What do we know about Chagas disease in the United States?. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 95(6), 1225.
- Moo-Millan, J. I., Hernández-Andrade, A., May-Concha, I. J., de Jesús Montalvo-Balam, T., Arnal, A., Talavera-Escalante, M. J., ... & Waleckx, E. (2023). Temporal variation of *Triatoma dimidiata* abundance and infection with *Trypanosoma cruzi* in domestic and sylvatic habitats of rural Yucatan, Mexico. *Acta tropica*, 248, 107038.
- Moo-Millan, J. I., W., Montalvo-Balam, J., Ibarra-López, M. P., Hernández-Betancourt, S., Jesús May-Concha, I., & Waleckx, E. (2023). Presence of *Trypanosoma cruzi* TcI and *Trypanosoma dionisii* in sylvatic bats from Yucatan, Mexico. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 118(10), 659-665.
- Morel C., Chiari E., Camargo E., Mattei D., Romanha A., & Simpson L. 1980. Strains and clones of *Trypanosoma cruzi* can be characterized by pattern of restriction endonuclease. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 77:68 10-14. 10.1073/pnas.77.11.6810
- Moya, D. M. (2016) Determinación de los linajes presentes en distintos aislamientos de *Trypanosoma cruzi* y su distribución en sangre, corazón y músculo esquelético del huésped durante la etapa aguda de la infección experimental [Tesis para obtener el título de Doctor en Ciencias Biológicas]. Repositorio Universidad Nacional de Córdoba
- Murillo-Solano, C., Ramos-Ligonio, A., López-Monteón, A., Guzmán-Gómez, D., Torres-Montero, J., Herrera, C., & Dumonteil, E. (2021). Diversity of

- Trypanosoma cruzi* parasites infecting *Triatoma dimidiata* in Central Veracruz, Mexico, and their One Health ecological interactions. *Infection, Genetics and Evolution*, 95, 105050.
- Nascimento, D., Haragushiku, O., Lúcia, G., & de Ornelas, T. J. (2019). *Trypanosoma* found in synanthropic mammals from urban forests of Paraná, Southern Brazil. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*.
- Navarro A., Córdova L., Fernández B., Arteaga O., Graterol R., Domínguez B., De Lima R., Pineda, W. y Contreras A., (2012). Epimastigogénesis de *Trypanosoma cruzi*: método para estudiar *in vivo* la transformación de tripomastigota en epimastigota. *Kasmera*, 40(2), 122-133.
- Nielebock, M. A. P., Moreira, O. C., Xavier, S. C. D. C., Miranda, L. D. F. C., Lima, A. C. B. D., Pereira, T. O. D. J. S., Saraiva, R. M. (2020). Association between *Trypanosoma cruzi* DTU TcII and chronic Chagas disease clinical presentation and outcome in an urban cohort in Brazil. *PLoS One*, 15(12), e0243008.
- Nogueira-Torres, B., Alexandre-Aguilar, R., Isita-Tornell, L., & Camacho, A. D. (2000). Defaecation Pattern in Seven Species of Triatomines (Insecta, Reduviidae) Present in México. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 42(4), 145-148.
- Noireau, F., Abad-Franch, F., Valente, S. A., Dias-Lima, A., Lopes, C. M., Cunha, V., & Jurberg, J. (2002). Trapping Triatominae in silvatic habitats. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97, 61-63.
- OMS. (2023). La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). Recuperado de [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)#:~:text=cruzi%20se%20transmite%20principalmente%20por,en%20zonas%20rurales%20y%20suburbanas](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)#:~:text=cruzi%20se%20transmite%20principalmente%20por,en%20zonas%20rurales%20y%20suburbanas).
- OMS (2025) Años de vida ajustados por discapacidad (AVAD). Recuperado de <https://www.who.int/data/gho/indicator-metadata-registry/imr-details/158>
- OPS. (2020). Chagas para el público general. Recuperado de <https://www.paho.org/es/documentos/enfermedad-chagas-america-para-publico-general-2020>
- Page, R. D. (1994). Parallel phylogenies: reconstructing the history of host-parasite assemblages. *Cladistics*, 10(2), 155-173.

- Pech-May, A., Mazariegos-Hidalgo, C. J., Izeta-Alberdi, A., López-Cancino, S. A., Tun-Ku, E., De la Cruz-Félix, K., & Ramsey, J. M. (2019). Genetic variation and phylogeography of the *Triatoma dimidiata* complex evidence a potential center of origin and recent divergence of haplogroups having differential *Trypanosoma cruzi* and DTU infections. *PLoS neglected tropical diseases*, 13(1), e0007044.
- Peña-Callejas, G., González, J. S., Jiménez-Cortés, J. G., De Fuentes-Vicente, J. A., Salazar-Schettino, P. M., Bucio-Torres, M. I., Cabrera-Bravo, M., y Flores-Villegas, A. L. (2022). Enfermedad de Chagas: Biología y transmisión de *Trypanosoma cruzi*. *Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 25.
- Pérez España, V. H., Morales Evangelista, C. L., Vázquez Chagoyán, J. C., Valladares Carranza, B., Romero Cortés, T., Cuervo Parra, J. A., 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.
- Pérez, V. H., Morales, C. L., Vázquez, J. C., Valladares, B., Romero, T., Cuervo, J. A. Martínez, I. M., Noguez, J. C., y Aparicio, 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.
- Pineda-Rodríguez, S. A., Ruiz-Reyes, B., Vargas-Álvarez, D., Vences-Velazco, G., Sánchez-Arriaga, J., y Rodríguez-Bataz, E. (2018). Infestación del intradomicilio por *Meccus pallidipennis* Stål (Hemiptera: Reduviidae) en Pololcingo, Guerrero, México. *Entomol. Mex*, 5, 491-496.
- Sosa-Jurado, F., Zumaquero-Ríos, J. L., Reyes, P. A., Cruz-García, A., Guzmán-Bracho, C., & Monteón, V. M. (2004). Factores bióticos y abióticos que determinan la seroprevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en el municipio de Palmar de Bravo, Puebla, México. *salud pública de méxico*, 46, 39-48.
- Stevens, J. R., & Brisse, S. (2003). Systematics of Trypanosomes of Medical and Veterinary Importance. En *The trypanosomiasis* (7.^a ed.). Ian Maudlin, Peter H. Holmes, Michael A. Miles. Ian Maudlin, Peter H. Holmes, Michael A. Miles.

- Ramos, X. C. (2014). Intervenciones ecosistémicas para el control de la enfermedad de Chagas: las experiencias de participación comunitaria en un proyecto desarrollado en el oriente de Guatemala. *Espacio abierto: cuaderno venezolano de sociología*, 23(2), 325-338.
- Ramos-Ligonio A, Ramírez-Sánchez M, González-Hernández J, Rosales-Encina J, y López-Monteón A. (2006). Prevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en donadores de sangre del IMSS, Orizaba, Veracruz, México. *Salud Pública de México, Salud Pública de México* 48(1), 13-21.
- Ramos-Ligonio A, Torres-Montero J, López-Monteón A, & Dumonteil E. (2012). Extensive diversity of *Trypanosoma cruzi* discrete typing units circulating in *Triatoma dimidiata* from central Veracruz, Mexico. *Infection, Genetics and Evolution*. 12(7):1341-3. doi: 10.1016/j.meegid.2012.04.024.
- Ramsey, J. M., Alvear, A. L., Ordonez, R., Muñoz, G., Garcia, A., Lopez, R., & Leyva, R. (2005). Risk factors associated with house infestation by the Chagas disease vector *Triatoma pallidipennis* in Cuernavaca metropolitan area, Mexico. *Medical and Veterinary Entomology*, 19(2), 219-228.
- Ramsey, J. M., Cruz-Celis, A., Salgado, L., Espinosa, L., Ordoñez, R., Lopez, R., & Schofield, C. J. (2003). Efficacy of pyrethroid insecticides against domestic and peridomestic populations of *Triatoma pallidipennis* and *Triatoma barberi* (Reduviidae: Triatominae) vectors of Chagas' disease in Mexico. *Journal of Medical Entomology*, 40(6), 912-920.
- Ramsey, J. M., Monreal, L. A., Ortiz, E., Navarro, S. M., Sánchez, G. S., y Bravo, I. E. (2021). Enfermedad de Chagas: omisión u olvido en la salud pública de México. *Instituto Nacional de Salud Pública*, 30.
- Ramsey, J. M., Peterson, A. T., Carmona-Castro, O., Moo-Llanes, D. A., Nakazawa, Y., Butrick, M., & Ibarra-Cerdeña, C. N. (2015). Atlas of Mexican Triatominae (Reduviidae: Hemiptera) and vector transmission of Chagas disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110, 339-352.
- Rassi, A. Marin-Neto, J. A. (2010). Chagas Disease. *The Lancet*, 375(9723), 1388-1402.
- Rey, L. (1992). Bases da parasitología médica. In *Bases da Parasitología Médica* (3 ed.) Rio de Janeiro Editora: Guanaba Koogan.

- Rodrigues, J., & Pinto, J. (2009). Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease: 100 years after its discovery. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104, 31-40. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762009000900006>
- Rodríguez, I. M. I., Miura, S., Maeda, T., Imai, K., Smith, C., Velasquez, C. V., & Hirayama, K. (2023). Analysis of the Chagas disease situation in Japan: a cross-sectional study and cost-effectiveness analysis of a Chagas disease screening program. *The Lancet Regional Health–Western Pacific*, 31.
- Salazar-Schettino, P. M., Bucio-Torres, M. I., Rojo-Medina, J., Manuel-Valencia, Y. V., Revuelta-Herrera, A., Pastén-Sánchez, S. A., y Cabrera-Bravo, M. (2019). Manual de Procedimientos para la Enfermedad de Chagas. *Ciudad de Mexico (Mexico): Editorial secretaria de Salud*.
- Salazar-Schettino, P. M., Rojas-Wastavino, G. E., & Cabrera Bravo, M. Y., Vences Blanco, MO, Ruiz Hernández, AL y Torres Gutiérrez, E. (2010) A revision of thirteen species of Triamoniae (Hemiptera: Reduviidae) vectors of Chagas disease in Mexico. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 1, 57-80.
- Sandoval-Ruiz, C. A., Guevara, R., & Ibáñez-Bernal, S. (2014). Household risk factors associated to infestation of *Triatoma dimidiata*, the Chagas disease vector in Central Region of Veracruz, Mexico. *salud pública de méxico*, 56(2), 213-220.
- Sandoval-Ruiz, C. A., Zumaquero-Rios, J. L., Linares, G., Aguilar, R. A., Cedillo Ramírez, M. L., y López Olguin, J. F. (2004). Infección natural con *Trypanosoma cruzi* en triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), vectores de la enfermedad de Chagas en San Antonio Rayón, Jonotla, Puebla, México. *Tecnociencia*, 6(1), 39–47.
- Sandoval-Ruiz, C. A., Zumaquero-Rios, J. L., & Rojas-Soto, O. R. (2008). Predicting geographic and ecological distributions of triatomine species in the southern Mexican state of Puebla using ecological niche modeling. *Journal of Medical Entomology*, 45(3), 540-546.
- Schneuer-Brahm, F. (2003). Comparación de la infección con tres cepas de *Trypanosoma cruzi* en un modelo murino. [Tesis para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista, Universidad de Chile]. Repositorio institucional de la Universidad Chile

- Schofield, C. J. (1994). *Triatominae Biology y Control Eurocomunica publications. W. Sussex, 80.*
- Schofield, C., Diotaiuti, L., & Dujardin, J. (1999). The process of domestication in triatominae. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, 94* (suppl 1), 375-378.
- Shikanai-Yasuda, M. A., & Carvalho, N. B. (2012). Oral transmission of Chagas disease. *Clinical Infectious Diseases, 54*(6), 845-852.
- Silvestrini, M. M. A., Alessio, G. D., Frias, B. E. D., Sales Júnior, P. A., Araújo, M. S. S., Silvestrini, C. M. A., Martins, H. R. (2024). New insights into *Trypanosoma cruzi* genetic diversity, and its influence on parasite biology and clinical outcomes. *Frontiers in Immunology, 15*, 1342431.
- 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.
- Stevens J. R., Noyes H. A., Schofield C. J., Gibson W. (2001). The molecular evolution of Trypanosomatidae. *Advances in Parasitology, 48*:1-56.
- Steverding, D. (2014). The history of Chagas disease. *Parasites & Vectors, 7*(1), 1-8.
- Tavares de Oliveira, M., Sulleiro, E., Silgado Gimenez, A., de Lana, M., Zingales, B., Santana da Silva, J., Molina, I. (2020). Quantification of parasite burden of *Trypanosoma cruzi* and identification of Discrete Typing Units (DTUs) in blood samples of Latin American immigrants residing in Barcelona, Spain. *PLoS Neglected Tropical Diseases, 14*(6), e0008311.
- Telleria, J., Tibayrenc, M. (Eds.). (2017). American trypanosomiasis Chagas disease: one hundred years of research. Elsevier.
- Téllez-Rendón, J.; Esteban, L.; Rengifo-Correa, L.; Díaz-Albiter, H.; Huerta, H.; Dale, C. (2023). *Triatoma yelapensis* sp. nov. (Hemiptera: Reduviidae) from Mexico, with a Key of Triatoma Species Recorded in Mexico. *Insects, 14*, 331.
- Tibayrenc, M., & Ayala, F. J. (1988). Isozyme variability in *Trypanosoma cruzi*, the agent of Chagas disease: genetical, taxonomical, and epidemiological significance. *Evolution, 42*(2), 277-292.
- Vallejo, G. A., Guhl, F., & Schaub, G. A. (2009). Triatominae–*Trypanosoma cruzi*/T. rangeli: Vector–parasite interactions. *Acta tropica, 110*(2-3), 137-147.

- Villalobos, G., Nava-Bolaños, A., De Fuentes-Vicente, J. A., Téllez-Rendón, J. L., Huerta, H., Martínez-Hernández, F., & Córdoba-Aguilar, A. (2019). A reduction in ecological niche for *Trypanosoma cruzi*-infected triatomine bugs. *Parasites & vectors*, 12(1), 240.
- Vela, A., Coral-Almeida, M., Sereno, D., Costales, J. A., Barnabé, C., & Brenière, S. F. (2021). In vitro susceptibility of *Trypanosoma cruzi* discrete typing units (DTUs) to benznidazole: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 15(3), e0009269.
- Velásquez-Ortiz, N., Hernández, C., Cantillo-Barraza, O., Medina, M., Medina-Alfonso, M., Suescún-Carrero, S., & Ramírez, J. D. (2022). Estimating the genetic structure of *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) and the transmission dynamics of *Trypanosoma cruzi* in Boyacá, eastern Colombia. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 16(7), e0010534.
- Velásquez-Ortiz, N., Herrera, G., Hernández, C., Muñoz, M., & Ramírez, J. D. (2022). Discrete typing units of *Trypanosoma cruzi*: Geographical and biological distribution in the Americas. *Scientific data*, 9(1), 360.
- Vera-Mella, A. (2005). Desarrollo de la infección con *Trypanosoma cruzi* en tres cepas puras de ratones. [Tesis para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista, Universidad de Chile]. Repositorio institucional de la Universidad Chile.
- Weirauch, C. (2021). Origin and evolution of Triatominae. In *Triatominae-The Biology of Chagas Disease Vectors* (pp. 1-13). Cham: *Springer International Publishing*.
- Wilke, A. B., Farina, P., Ajelli, M., Canale, A., Dantas-Torres, F., Otranto, D., & Benelli, G. (2025). Human migrations, anthropogenic changes, and insect-borne diseases in Latin America. *Parasites & Vectors*, 18(1), 4.
- Woolrich-Piña, G. A., García-Padilla, E., DeSantis, D. L., Johnson, J. D., Mata-Silva, V., & Wilson, L. D. (2017). The herpetofauna of Puebla, Mexico: composition, distribution, and conservation. *Mesoamerican Herpetology*, 4(4), 794-884.
- Zaman, V. (1979). Atlas de parasitología clínica: un atlas de protozoarios, helmintos y artrópodos más importantes. Medicina Panamericana.
- Zavala, J. T., Sánchez, J. H. P., López, A. C., Guarneros, A. D. R., Vega, J. T. S., Sánchez, D. R., y Cabello, R. R. (2006). Enfermedad de Chagas en el

estado de Puebla. Reporte de nuevas localidades infectadas. *Rev. Fac. Med. UNAM*, 49, 194-202.

Zingales, B. (2018). *Trypanosoma cruzi* genetic diversity: Something new for something known about Chagas disease manifestations, serodiagnosis and drug sensitivity. *Acta Tropica*, 184, 38-52.

Zingales, B., Andrade, S. G., Briones, M. R. S., Campbell, D., Chiari, E., Fernandes, O., Guhl, F., Lages-Silva, E., Macedo, A. M., Machado, C. R., Miles, M., Romanha, A. J., Sturm, N., Tibayrenc, M., & Schijman, A. (2009). A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TCI to TCVI. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(7), 1051-1054. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762009000700021>

Zingales, B., Miles, M. A., Campbell, D. A., Tibayrenc, M., Macedo, A. M., Teixeira, M. M., & Sturm, N. R. (2012). The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infection, genetics and evolution*, 12(2), 240-253.

Zumaquero-Rios, J. L., López-Monteón, A., López-Domínguez, J., Melo-Pérez, F. V. R., Torres-Montero, J., Ochoa-Martínez, P., & Ramos-Ligonio, A. (2022). *Meccus pallidipennis* and *Triatoma bassolsae* as Main Vectors of *Trypanosoma cruzi*: The Case of Xayacatlán de Bravo, Puebla, Mexico. *Southwestern Entomologist*, 47(1), 45-52.