

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades



Detección y caracterización de *Trypanosoma cruzi*
en *Triatoma dimidiata*: Estudio de la presencia de
la enfermedad de Chagas y análisis de la diversidad
genética.

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por Andrea
María Moller Vásquez para optar al grado académico de Licenciada en
Biotecnología Molecular

Guatemala,
2023

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades

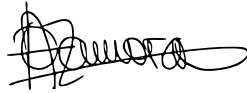


Detección y caracterización de *Trypanosoma cruzi*
en *Triatoma dimidiata*: Estudio de la presencia de
la enfermedad de Chagas y análisis de la diversidad
genética.

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por Andrea
María Moller Vásquez para optar al grado académico de Licenciada en
Biotecnología Molecular

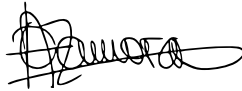
Guatemala,
2023

Vo.Bo.:

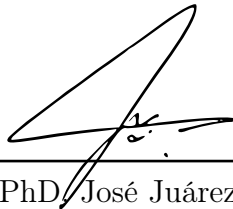


(f) _____
PhD. Alejandra Zamora

Tribunal Examinador:



(f) _____
PhD. Alejandra Zamora



(f) _____
PhD. José Juárez



(f) _____
PhD. Sarah Hamer

Fecha de aprobación: Guatemala, 11 de diciembre de 2023.

Le agradezco a Dios por permitirme culminar este proyecto, como mi carrera. También le agradezco a mi familia, Flor Vásquez, Natalia García, Herbert Moller y Mildred Vásquez por apoyarme y ayudarme a llegar hasta este punto en mi carrera. Así como a Natus, Chivis, Rodri, Ale, tía Ingrid, tío Mike, mis tíos, primos y otros miembros de mi familia que me han apoyado durante este proceso. A mis asesores, la PhD. Alejandra Zamora y PhD. José Juárez por aceptarme como su tesista y por su apoyo durante este proyecto. Al PhD. José Juárez por introducirme al proyecto y contactarme con la Universidad de Texas A&M. A PhD. Sarah Hamer y PhD. Gabe Hamer por aceptarme en sus laboratorios en Texas A&M, así como a los equipos de ambos laboratorios. A todos los miembros de la Universidad del Valle de Guatemala y de la Universidad de Texas A&M que me ayudaron a culminar este proyecto. A mis asesores no oficiales pero que fueron claves para culminar con el proyecto, el Lic. Julio del Cid y el PhD. Diego Archila. Así como Henry Esquivel con su apoyo para recolectar las muestras y acompañarnos durante el estudio. Además, les agradezco a mis peluditos, Tommy, Nala y Koda por darme su apoyo incondicional durante estos 5 años y por acompañarme en mis noches de desvelo.

Prefacio	III
Lista de figuras	VII
Lista de cuadros	VIII
Resumen	IX
Abstract	X
1. Introducción	1
2. Antecedentes	2
3. Justificación	4
4. Objetivos	5
4.1. Objetivo general	5
4.2. Objetivos específicos	5
5. Marco teórico	6
5.1. <i>Triatoma dimidiata</i>	6
5.1.1. Distribución y hábitat de <i>Triatoma dimidiata</i>	7
5.1.2. Ciclo de vida de <i>T. dimidiata</i>	8
5.1.3. Situación de triatominos en Guatemala	8
5.2. Enfermedad de Chagas	10
5.2.1. Formas de infección	11
5.2.2. <i>Trypanozoma cruzi</i>	11
5.2.3. Unidades discretas de tipificación (DTU)	12
5.2.4. Detección de <i>T. cruzi</i>	13
5.2.5. Tratamientos	13
6. Metodología	15
6.1. Variables	15
6.2. Recolección de datos	15
6.3. Diseño experimental	17
6.3.1. Creación y manejo de bases de datos	17
6.3.2. Procesamiento y disección de muestras.	18

6.3.3.	Extracción de ADN	19
6.3.4.	Detección de la presencia de <i>T. cruzi</i> en triatomíneos	21
6.3.5.	Caracterización genética de las cepas de <i>T. cruzi</i>	22
6.4.	Análisis experimental	22
6.4.1.	Verificación y análisis de base de datos	22
6.4.2.	Determinación de la prevalencia de infección por <i>T. cruzi</i> en triatomíneos. . .	24
6.4.3.	Determinación de perfiles genéticos de <i>T. cruzi</i>	25
6.4.4.	Análisis estadístico.	25
7.	Resultados	28
7.1.	Verificación y análisis de base de datos	28
7.2.	Detección de la presencia de <i>T. cruzi</i>	30
7.3.	Determinación de los tipos de cepas de <i>T. cruzi</i>	31
7.4.	Predicción de infectividad de <i>T. cruzi</i> en triatomíneos.	31
8.	Análisis de resultados	33
9.	Conclusiones	37
10.	Recomendaciones	38
11.	Bibliografía	39
12.	Anexos	47
12.1.	Comité de ética	47
12.2.	Preguntas de las encuestas	48
12.3.	Información adicional sobre verificación y análisis de base de datos.	50
12.4.	Disección de muestras	52
12.5.	Mapas de los pozos utilizados para las reacciones de qPCR.	53
12.6.	Curvas de qPCR obtenidas en la detección de <i>T. cruzi</i>	55
12.7.	Mapas de los pozos utilizados para las reacciones de qPCR multiplex.	58
12.8.	Curvas de qPCR multiplex	59
12.9.	Información adicional sobre la determinación de cepas de <i>T. cruzi</i>	63
12.10.	Validación del modelo por medio de la prueba DHARMa	67
12.11.	Script utilizado para el análisis estadístico de la predicción de infectividad de <i>T. cruzi</i> en triatomíneos.	67

Lista de figuras

2.1. Mapa de transmisión por el principal vector de la enfermedad de Chagas.	3
5.1. Morfología general de triatominos.	6
5.2. Distribución de <i>T. dimidiata</i> a lo largo de Latinoamérica.	7
5.3. Ciclo de vida de <i>Triatoma dimidiata</i>	8
5.4. Reducción de <i>Rhodnius prolixus</i> en Guatemala durante el periodo de 2000 a 2004.	9
5.5. Ciclo de vida de <i>T. cruzi</i>	12
5.6. Visualización de <i>T. cruzi</i> de paciente en fase aguda.	13
6.1. Lugar de muestreo.	16
6.2. Ejemplares de triatominos utilizados para clasificar a las muestras recolectadas.	18
6.3. Mapa de componentes de la placa de 96 pocillos.	21
6.4. Recolección de datos para elaborar la pestaña de “Data_houses”.	23
6.5. Curvas de RT-PCR para la detección de <i>T. cruzi</i>	24
6.6. Determinación del DTU según la señal de fluorescencia.	25
7.1. Distribución de triatominos según la comunidad, estadio y la ubicación.	28
7.2. Información obtenida del análisis de la base de datos.	29
7.3. Distribución de triatominos y detección de la presencia de <i>T. cruzi</i>	30
12.1. Aprobación del comité de ética para el estudio.	47
12.2. Mediciones del largo del cuerpo de los triatominos.	52
12.3. Preparación de materiales para la disección en campana de bioseguridad B2.	53
12.4. Mapa de los pozos utilizados en la reacción del 230531.	53
12.5. Mapa de los pozos utilizados en la reacción del 230605.	54
12.6. Mapa de los pozos utilizados en la reacción del 230606.	54
12.7. Mapa de los pozos utilizados en la reacción del 230607.	54
12.8. Mapa de los pozos utilizados en la reacción del 230608.	54
12.9. Mapa de los pozos utilizados en la reacción del 230609.	55
12.10 Curvas de qPCR obtenidas en la reacción del 230531	55
12.11 Curvas de qPCR obtenidas en la reacción del 230605	56
12.12 Curvas de qPCR obtenidas en la reacción del 230606	56
12.13 Curvas de qPCR obtenidas en la reacción del 230607	57
12.14 Curvas de qPCR obtenidas en la reacción del 230608	57
12.15 Curvas de qPCR obtenidas en la reacción del 230609	58
12.16 Mapa de los pozos utilizados en la reacción de qPCR multiplex con concentraciones normales.	58

12.17	Mapa de los pozos utilizados en la reacción de qPCR multiplex a mayor o menor concentración.	59
12.18	Curva de qPCR multiplex para la señal de fluorescencia FAM, con concentraciones normales.	59
12.19	Curva de qPCR multiplex para la señal de fluorescencia HEX con concentraciones normales.	60
12.20	Curva de qPCR multiplex para la señal de fluorescencia Quasar 670, con concentraciones normales.	60
12.21	Curva de qPCR multiplex para la señal de fluorescencia TEX615, con concentraciones normales.	61
12.22	Curva de qPCR multiplex para la señal de fluorescencia FAM, a mayor y menor concentración.	61
12.23	Curva de qPCR multiplex para la señal de fluorescencia HEX a mayor y menor concentración.	62
12.24	Curva de qPCR multiplex para la señal de fluorescencia Quasar 670, a mayor y menor concentración.	62
12.25	Curva de qPCR multiplex para la señal de fluorescencia TEX615, a mayor y menor concentración.	63
12.26	Validación del modelo por medio de la prueba DHARMA del modelo más parsimonioso para la predicción de la infectividad de <i>T. cruzi</i> en triatominos.	67

Lista de cuadros

6.1. Variables utilizadas en el estudio.	15
6.2. Información de comunidades muestreadas.	16
6.3. Preparación de la mezcla “ <i>RNase A</i> ”.	20
6.4. Preparación de la mezcla “ <i>DNA Binding Beads</i> ”.	20
6.5. Secuencia, concentración y volumen de oligonucleótidos para el master mix del qPCR multiplex.	22
7.1. Prevalencia de infección por <i>Trypanosoma cruzi</i> en triatominos.	30
7.2. Determinación de tipos de cepas de <i>T. cruzi</i>	31
7.3. Resumen de la selección de modelo lineal generalizado con familia binomial.	31
7.4. Descripción de parámetros para la predicción de la infectividad de <i>T. cruzi</i> en triatominos.	32
12.1. Información adicional sobre la determinación de cepas de <i>T. cruzi</i>	64
12.2. Continuación de la información adicional sobre la determinación de cepas de <i>T. cruzi</i>	65
12.3. Continuación 2 de la información adicional sobre la determinación de cepas de <i>T. cruzi</i>	66

Alrededor del mundo la enfermedad de Chagas afecta entre 6 a 7 millones de personas. Esta enfermedad es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, comúnmente transmitido por el vector *Triatoma dimidiata*, endémico de Guatemala. Esto es un problema crítico ya que existen regiones con infestaciones persistentes a pesar de las intervenciones realizadas, lo que refleja la necesidad de desarrollar mejores estrategias para el manejo de las infestaciones. El presente estudio tiene como objetivo determinar y caracterizar a *T. cruzi* en muestras de triatomíneos por medio de PCR en tiempo real. Se determinó que, de 76 casas muestreadas en diferentes comunidades de Comapa, Jutiapa, Guatemala el 26% de ellas presentan infestación del insecto *T. dimidiata*. La prevalencia de infección de *T. cruzi* en las muestras de triatomíneos fue del 32% (n=115), aunque este dato puede ser afectado por comunidades donde no fue posible muestrear el número total de las casas. Al realizar la caracterización genética de las muestras se determinó que las 33 muestras positivas para *T. cruzi* corresponden al DTU TcI. Se encontró un modelo predictivo sobre la infectividad de *T. cruzi*, donde se observó que la probabilidad de capturar triatomíneos infectados está relacionada con la altura (msnm) a la que se encuentra la vivienda, siendo alturas mayores las que presentan más triatomíneos infectados. Los resultados del presente estudio reflejan infestaciones persistentes de *T. dimidiata* en las comunidades de Comapa, lo que demuestra la necesidad de continuar con los esfuerzos de control y erradicación, así mismo desarrollar nuevas estrategias para interrumpir el ciclo de transmisión de *T. cruzi*.

Worldwide, Chagas disease affects 6 to 7 million people. This disease is caused by the parasite *Trypanosoma cruzi*, commonly transmitted by the vector *Triatoma dimidiata*, endemic to Guatemala. This is a critical problem since there are regions with persistent infestations despite interventions, reflecting the need to develop better strategies for the management of infestations. The present study aimed to determine and characterize *T. cruzi* in triatomine samples by real-time PCR. Of 76 houses sampled in different communities of Comapa, Jutiapa, Guatemala, 26% were found to be infested with *T. dimidiata*. The prevalence of *T. cruzi* in the triatomine samples was 32% (n=115), although this number may be affected by communities where it was not possible to sample the total number of houses. Upon genetic characterization of the samples, it was determined that the 33 samples positive for *T. cruzi* correspond to the DTU TcI. A predictive model on *T. cruzi* infectivity was found, where it was observed that the probability of capturing infected triatomines is related to the altitude (msnm) in which the house is located, with higher altitudes having more infected triatomines. The results of the present study reflect persistent infestations of *T. dimidiata* in the communities of Comapa, which demonstrates the need to continue with control and eradication efforts, as well the development of new strategies to interrupt the transmission cycle of *T. cruzi*.

La enfermedad de Chagas es una enfermedad causada por *Trypanosoma cruzi* (Rassi, Marin-Neto, 2010). La Organización Mundial de la Salud la considera como una enfermedad desatendida (Orantes *et al.* 2018), habiendo entre 6 y 7 millones de personas infectadas (World Health Organization, 2021). La transmisión puede estar dada por transfusiones de sangre, consumo de alimentos contaminados, accidentes de laboratorio, transmisión congénita o por medio de vectores (Juarez *et al.* 2018; WHO, 2021). Las áreas endémicas para la enfermedad son México y Centroamérica, siendo los triatomos como *T. dimidiata* y *Rhodnius prolixus* especies endémicas para la región (Monroy *et al.* 2022).

Rhodnius prolixus era uno de los vectores más importantes de la región, sin embargo, la abundancia poblacional actual es muy baja y ya no se considera un problema para la salud en países como Guatemala, Nicaragua, México y Costa Rica (Monroy *et al.* 2022). *Triatoma dimidiata* es el principal causante de la enfermedad de Chagas en países de Centroamérica (Castro-Arroyave *et al.* 2020). Algunos de los esfuerzos realizados para controlar a las poblaciones de *T. dimidiata* dentro de los hogares ha sido el mejoramiento de viviendas, campañas de educación y el rociamiento de insecticidas (Juarez *et al.* 2018). A pesar de estas intervenciones, en regiones persistentes como Jutiapa, aún se pueden encontrar comunidades con altos índices de infestación (Monroy *et al.* 2022). Es por ello que se debe mantener un constante estudio y vigilancia del vector.

Juarez *et al.* (2018) realizaron estudios serológicos para determinar el efecto de las actividades de control de vectores. Se encontró una reducción en cuanto a la infección presente en niños, pasando de 10% a 1%. Sin embargo, en mujeres en edad reproductiva, la infección persiste sobre el 10% (Juarez *et al.* 2018). Además, se han realizado estudios para determinar las distintas cepas de *T. cruzi* o “Discrete Typing Units (DTUs)”, de las cuales actualmente se conocen de la TcI hasta la TcVI, en algunos casos hasta la TcVII (Zingales *et al.* 2009; Orantes *et al.* 2018; Bowman *et al.* 2022).

El presente estudio tenía como objetivo la determinación de la presencia de *T. cruzi* en muestras de triatomos colectados en Comapa, Jutiapa Guatemala, por medio de PCR en tiempo real (qPCR). Esto fue posible por medio de métodos como hora/hombre y técnicas moleculares como qPCR y multiplex-qPCR. Los resultados demostraron infestaciones persistentes de *T. dimidiata* en las comunidades de Comapa, lo que resalta la necesidad de continuar con los esfuerzos de erradicación de *T. cruzi*.

Los triatominos, del orden Hemiptera, son uno de los principales vectores de la enfermedad de Chagas, la cual afecta de gran manera a países de Centroamérica (Nakagawa *et al.* 2003; Pacheco-Tucuch *et al.* 2012; Monroy *et al.* 2022). Estudios realizados por Monroy y su equipo (2022) determinaron que los insectos pueden habitar en casas con piso de tierra y en las rajaduras de las casas construidas con lodo o bajareque (mezcla de palos y lodo o adobe). Además, observaron que ciertos factores como la acumulación de materiales como leña o ladrillos, así como la presencia animales dentro de las casas puede influenciar la presencia de los triatominos (Monroy *et al.* 2022). Otros estudios mencionan que no es posible generalizar estos factores, ya que el comportamiento de los insectos depende de su ecología, el ambiente en el que se encuentre y el comportamiento del humano (Crocco *et al.* 2019).

La presencia de triatominos no siempre es indicador de la presencia de la enfermedad de Chagas. En estudios realizados en Belice, se observó que de 41 insectos recolectados, el 60 % se encontraban positivo para *T. cruzi* (Caranci *et al.* 2022). En Veracruz, México se obtuvieron porcentajes similares de 20 muestras recolectadas, el 65 % se encontraba infectado (Murillo-Solano *et al.* 2021). Al analizar la presencia de *T. cruzi* en triatominos selváticos de Veracruz, México, se determinó que el 29 % de las muestras contaba con el parásito (Joselín *et al.* 2021). En la municipalidad de Comapa, Jutiapa, Guatemala se ha observado que de 11 comunidades muestreadas 5 de ellas presentan tasas de infestación altas, mayores al 20 % (Monroy *et al.* 2022). En reportes realizados por la OMS se observó que en octubre de 2019 se colocó a Guatemala como un área donde el principal vector ha sido eliminado (Figura 2.1). Sin embargo, estos reportes se realizaron para el vector *Rhodnius prolixus*.

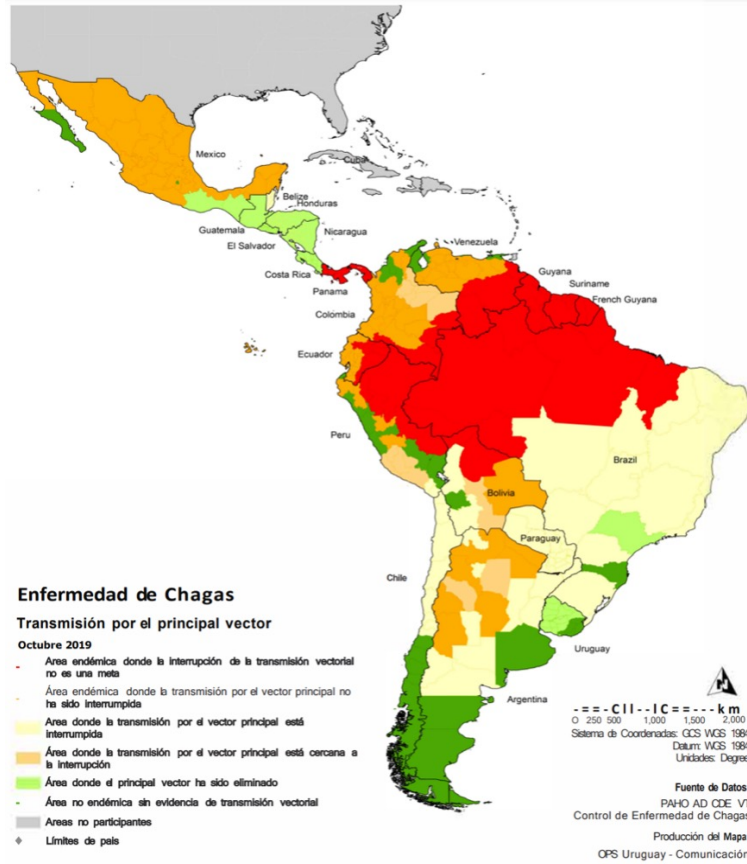


Figura 2.1: Mapa de transmisión por el principal vector de la enfermedad de Chagas.

(OMS, 2019).

Al realizar marcajes moleculares de triatomos se analizan las unidades discretas de tipificación, *Discrete Typing Units*, DTU (Liano *et al.* 2014). Estas unidades representan las 7 cepas de *T. cruzi* y se nombran como TcI hasta la TcVII (Bowman *et al.* 2022; Zingales *et al.* 2009). Es importante estudiar los tipos de DTUs presentes en triatomos, ya que cada uno puede brindarle distintas capacidades al vector y dificultar las estrategias de control (Pech-May *et al.* 2019). Por ejemplo, en Veracruz, México, se logró identificar los DTUs TcI, TcII, TcV y TcVI (Murillo-Solano *et al.* 2021). Los triatomos selváticos analizados en esta región presentaron un DTU predominante de TcI (Joselín *et al.* 2021). También se encontraron muestras con DTUs de TcII, TcV y TcVI (Joselín *et al.* 2021). En otras especies de triatomos en Colombia, como *Rhodnius prolixus*, se ha identificado el DTU TcI como la cepa predominante (Cantillo-Barranza *et al.* 2020).

En Guatemala, *T. dimidiata* es el principal causante de la enfermedad de Chagas (Monroy *et al.* 2009). Se ha documentado que los insectos ingresan a los hogares a pesar de programas de rociamiento de insecticidas (Castro-Arroyave *et al.* 2020). En un estudio realizado en 2022 se encontró que, de 11 comunidades de Comapa, Jutiapa, 5 de ellas presentaron índices de infestaciones mayores al 20 %, 3 presentaron índices entre 8-20 % y solamente 3 comunidades presentaron índices bajos de infestación (Monroy *et al.* 2022).

Según el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS) en Guatemala en el año 2022 hubo un aumento del 18 % de reporte de casos de la enfermedad de Chagas en comparación con el año anterior. Solamente en Jutiapa, los casos aumentaron de 72 a 111 casos (MSPAS, 2022). Este aumento resalta la importancia de la investigación y caracterización de *T. cruzi* en el país. La detección y caracterización de cepas de *T. cruzi* en triatomíneos es una herramienta fundamental para determinar para el monitoreo de la enfermedad, así como para determinar la efectividad de las estrategias de control y/o prevención.

4.1. Objetivo general

Determinar la presencia de *Trypanosoma cruzi* en muestras de triatomíneos colectados en Comapa, Jutiapa Guatemala, por medio de PCR en tiempo real (qPCR).

4.2. Objetivos específicos

- Caracterizar genéticamente las cepas de *Trypanosoma cruzi* encontradas en los triatomíneos por medio de qPCR multiplex.
- Determinar la prevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en las muestras de triatomíneos recolectados.
- Colectar y procesar muestras de *Triatoma dimidiata* colectadas en Comapa, Jutiapa, Guatemala.
- Crear y manejar la base de datos de muestras de *Triatoma dimidiata* colectadas en Comapa, Jutiapa.

5.1. *Triatoma dimidiata*

Triatoma dimidiata, pertenece al orden *Hemiptera*, es parte de la familia *Reduviidae*, de la subfamilia *Triatominae* (Dumonteil *et al.* 2002; Dorn *et al.* 2007; Quirós-Gómez *et al.* 2017). Las hembras adultas se diferencian ya que presentan un apéndice sobresaliente en el abdomen, los machos presentan un abdomen redondo (Figura 5.1) (Lent & Wygodzinsky, 1979). Los triatominos se alimentan estrictamente de sangre de vertebrados (Nattero *et al.* 2015). Generalmente se ocultan durante el día y salen de noche para alimentarse (WHO, 2021). Estos insectos se alimentan tanto de especies silvestres como de especies domésticas, incluyendo al ser humano (Quirós-Gómez *et al.* 2017). El sistema de olfato de los triatominos juega un rol muy importante en su comportamiento, ya que con el pueden cumplir funciones como encontrar su próxima comida, un refugio, o evadir a sus depredadores (May-Concha *et al.* 2018).

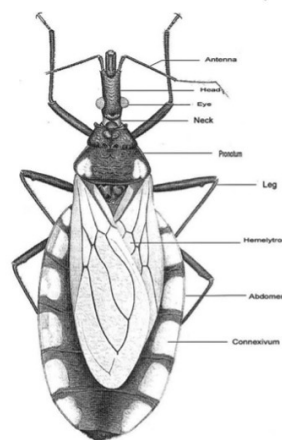


Figura 5.1: Morfología general de triatominos.

(Jurberg & Galvão, 2006).

Triatoma dimidiata es uno de los principales vectores de la enfermedad de Chagas en Centroamé-

rica (Nakagawa *et al.* 2003; Pacheco-Tucuch *et al.* 2012). Se ha especulado que su origen se encuentra entre el Sur de México y el Norte de Guatemala (Dorn *et al.* 2007). La dispersión del triatomino dio origen a diversas variaciones. En 1944, Usinger realizó clasificaciones en base a características morfológicas, pero en 1979 Lent y Wygodzinsky, eliminaron estas clasificaciones y basándose en datos genéticos propusieron dos grupos, Protracta y Rubrofasciata (Quirós-Gómez *et al.* 2017). Recientemente los taxónomos sugieren que debido a que se encuentra mucha diversidad en cuanto a rasgos externos, tamaños y coloraciones, *Triatoma dimidiata* debería ser considerado como un complejo de especies (Dorn *et al.* 2007).

5.1.1. Distribución y hábitat de *Triatoma dimidiata*

T. dimidiata, se distribuye desde México, hasta el norte de Perú (Figura 5.2) (Zeledón *et al.* 1970). Se ha observado que *Triatoma dimidiata* se encuentra tanto en viviendas humanas como en habitats selváticos (Zeledón *et al.* 1970). En estudios realizados en Costa Rica, se encontró que la mayoría de triatominos capturados en el área intradomiciliar (dentro de los hogares), estaban cerca de las camas (Zeledón *et al.* 1973). Estos insectos se ven atraídos hacia los hogares por la luz perteneciente al alambrado publico (Pacheco-Tucuch *et al.* 2012). Los insectos se encuentran ampliamente distribuída en ambientes domésticos, peridomésticos y selváticos, por lo que su erradicación resulta poco probable (Nakagawa *et al.* 2003).

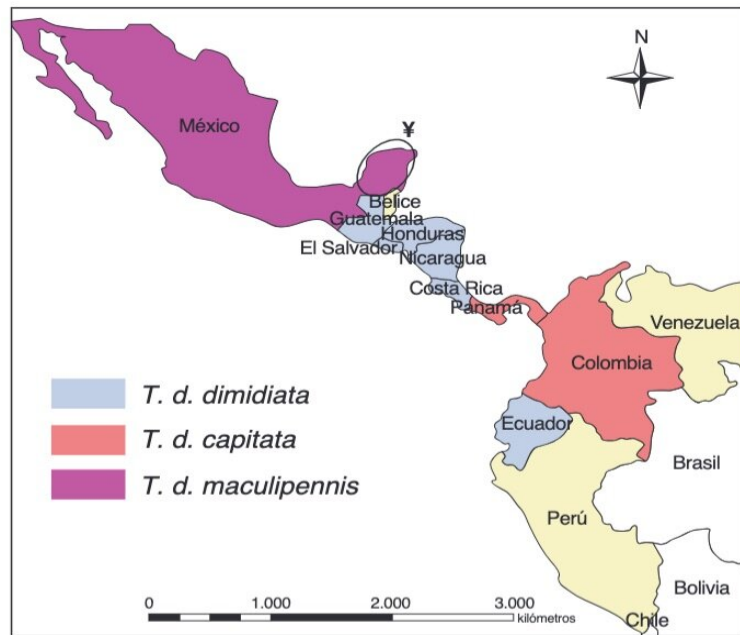


Figura 5.2: Distribución de *T. dimidiata* a lo largo de Latinoamérica.

(Quirós-Gómez *et al.* 2017).

En Guatemala, *T. dimidiata* se distribuye a lo largo de todo el país, ya que esta presente en más de 16 departamentos (Tabaru *et al.* 1999; Dorn, *et al.* 2003). Uno de los departamentos con los índices de infestación más altos es Jutiapa (Nakagawa *et al.* 2003). Para realizar los programas de control, es necesario tomar en consideración las variaciones de las especies y los diversos ambientes en los que se encuentran (Dorn *et al.* 2007). Por ejemplo, en Yucatán, México se ha observado que la reinfestación luego del rociamiento es relativamente rápida, siendo menor de 6 meses (Dumonteil *et al.* 2004).

5.1.2. Ciclo de vida de *T. dimidiata*

El ciclo de vida de los triatominos (Figura 5.3) se compone de 2 fases, la fase de ninfas y adultos (Reyes & Angulo, 2009). La fase de ninfas presentan cinco estadios, mientras más desarrollados mayor es la ingesta sanguínea (Zeledón *et al.* 1970). En condiciones de laboratorio el cambio de estadio para las ninfas de primer a segundo estadio puede tomar entre 33 a 38 días, del segundo al tercer estadio entre 41 y 61 días; las ninfas de quinto estadio pueden tomar hasta 69 días en desarrollarse (Reyes & Angulo, 2009).

En cuanto a la ingesta sanguínea, se ha observado que las ninfas de primer estadio se alimentan en promedio de 4.5mg de sangre, mientras que las ninfas de quinto estadio se alimentan hasta de 421.3mg (Zeledón *et al.* 1970). En adultos la infesta puede ir desde 141mg hasta 9000mg en el caso de los machos, mientras que las hembras pueden alimentarse entre 156mg hasta 5000mg de sangre (Zeledón *et al.* 1970). Cuando se reproducen, las hembras pueden producir alrededor de 550 huevos, en algunos casos producen hasta 1000 (Lent & Wygodzinsky, 1979). Para que los huevos eclosionen deben pasar entre 10 a 30 días (Lent & Wygodzinsky, 1979). En condiciones de laboratorio a temperaturas de 23°C, el ciclo de vida de *T. dimidiata* es en promedio de 11 meses (Zeledón *et al.* 1970). Sin embargo, en otras pruebas de laboratorio se ha observado que el tiempo de vida puede reducirse a 5 meses (Reyes, Angulo, 2009).

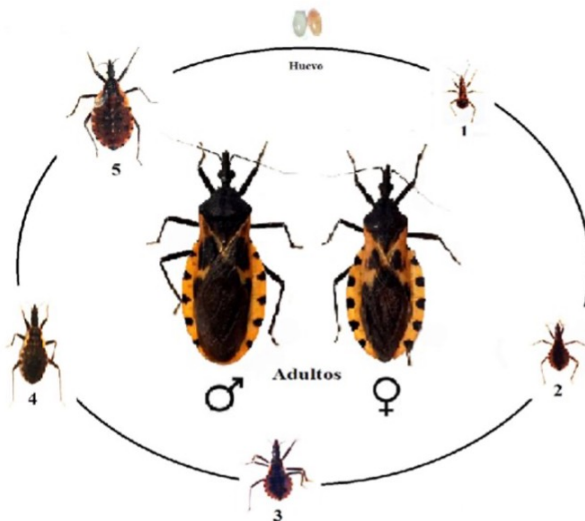


Figura 5.3: Ciclo de vida de *Triatoma dimidiata*.

(Fuentes-Vicente *et al.* 2016).

5.1.3. Situación de triatominos en Guatemala

En Centroamérica, se ha observado que la especie *Rhodnius prolixus* solamente habita en ambientes domésticos, por lo que fue posible su erradicación; sin embargo *T. dimidiata* se distribuye ampliamente por diversos ambientes, por lo que su control presenta más complicaciones (Nakagawa *et al.* 2003). Las estrategias de erradicación deben de tomar en cuenta que existen diferentes subespecies de *T. dimidiata*, dado que no todas las estrategias brindarían los mismos resultados (Dorn *et al.* 2007). Por ejemplo, se ha observado que las poblaciones de *T. dimidiata* de Nicaragua responden de mejor manera ante los rociamientos de insecticidas, ya que luego de aplicarlos la reinfestación es poco probable; mientras que en Jutiapa, los niveles de reinfestación luego de 22 meses son posibles (Acevedo *et al.* 2000; Nakagawa *et al.* 2003; Cahan *et al.* 2019).

Desde el año 2000, el Ministerio de Salud de Guatemala y la Agencia Internacional de Cooperación de Japón (JICA por sus siglas en inglés) implementaron un programa que buscaba eliminar al vector *Rhodnius prolixus* y disminuir la población de *T. dimidiata* en departamentos como Zacapa, Jutiapa, Chiquimula, Santa Rosa y Jalapa (Nakagawa *et al.* 2003). El JICA propuso a un asesor de largo plazo para el Programa Nacional de Chagas, así como 4 voluntarios para el área de Salud (Nakagawa *et al.* 2006). En este programa colaboraron: el Centro de Estudios en Salud de la Universidad del Valle de Guatemala, La Organización Pan Americana de Salud, La Universidad San Carlos de Guatemala y El Centro para el Control y Prevención de enfermedades de Estados Unidos (Nakagawa *et al.* 2003).

Según Nakagawa y colaboradores (2003), en Jutiapa las operaciones de control se realizaron desde junio del año 2000 hasta septiembre de 2002. Se presentó la línea base que constaba de encuestas entomológicas, la fumigación de casas con insecticida residual y una encuesta luego del rociamiento (Nakagawa *et al.* 2003). Con la encuesta basal, se buscaba identificar comunidades infectadas y la intensidad de la infestación (Nakagawa *et al.* 2003). Los investigadores mencionan que en de 272 casas muestreadas en Comapa el porcentaje de infestación fue del 34.9% (n= 423). Luego de las encuestas y del respectivo análisis, se prosiguió con la fase de rociamiento. El equipo utilizado durante esta etapa fue Hudson X-pert y los insecticidas utilizados fueron principalmente deltametrina, uno de los insecticidas mas potentes utilizados para el control de ectoparásitos (Hashimoto *et al.* 2015; Lu *et al.* 2019). Además de deltametrina, se utilizaron insecticidas como lambda-cihalotrina y betaciflutrina para rociar aquellas comunidades que presentaran un índice de infestación mayor al 5% en los periodos de septiembre-noviembre de 2000 y marzo-ctubre de 2001 (Nakagawa *et al.* 2003). De 176 casas inspeccionadas, en Comapa se presentó una reducción del índice de infestación general del 34.9% al 12.6% , además se presentó un índice de infestación domiciliar de 11.4% y peridomiciliar de 1.2% (Nakagawa *et al.* 2003). Asimismo, en el país se logró disminuir la presencia de *R. prolixus* (Figura 5.4)

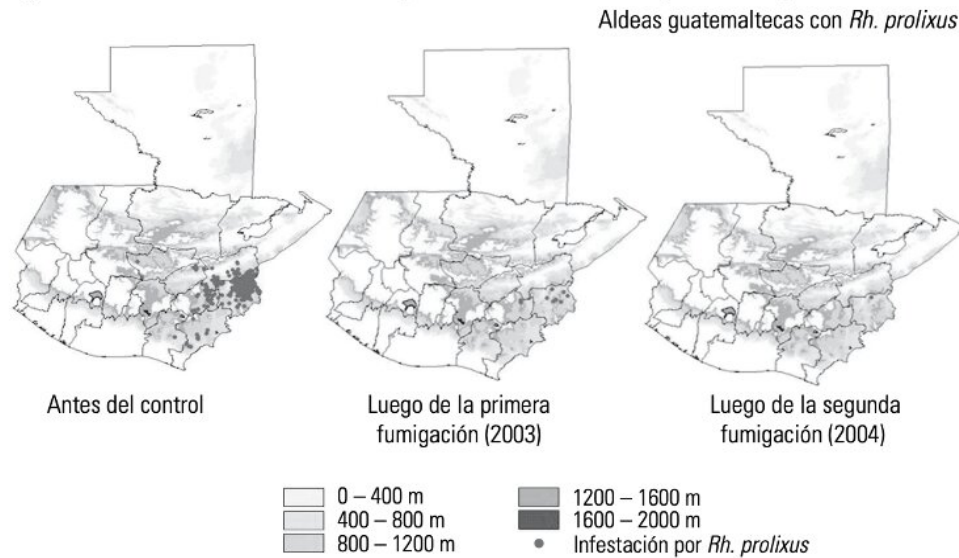


Figura 5.4: Reducción de *Rhodnius prolixus* en Guatemala durante el periodo de 2000 a 2004. (Nakagawa *et al.* 2006).

En 2008 se certificó que Guatemala se encontraba libre de la transmisión de Chagas por medio del vector *Rhodnius prolixus* (Hashimoto & Schofield, 2012). En cuanto a *T. dimidiata*, se ha observado que a pesar de los continuos rociamientos, las re-infestaciones son recurrentes, demostrando que esta no es la mejor estrategia para el control (Pereira *et al.* 2022). Por ello, se han desarrollado planes como el mejoramiento de viviendas para prevenir grietas en las paredes, eliminación de suelos de

tierra, construcción de gallineros, reforestaciones de árboles frutales y educación sobre la enfermedad de Chagas (Juarez *et al.* 2018; Pereira *et al.* 2022). En un estudio realizado por Monroy y su equipo (2009), se realizaron dos tipos de intervenciones en Jutiapa, en la primera se buscaba mejorar las viviendas y la segunda consistía en el rociamiento de insecticidas. Se encontró que las casas que habían sido mejoradas presentaron una disminución de infestaciones domiciliarias de *T. dimidiata* (Monroy *et al.* 2009).

Se han realizado encuestas serológicas en niño en edad escolar de la municipalidad de Comapa, Jutiapa en los años 1999, 2007 y 2015; en mujeres de 15 a 44 años se realizó solamente en el año 2015 (Juarez *et al.* 2018). En el estudio realizado por Juarez y su equipo en 2018, se observó una reducción de la seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en niños del 10 % al 1 %, pero en mujeres permaneció arriba del 10 %. En un estudio serológico realizado en 2018 se observó la ausencia de *T. cruzi* en niños menores de 5 años a pesar que sus comunidades, El Anonito y Matochal, presentaron los índices de infestación más altos (Monroy *et al.* 2022). En este estudio también se realizaron encuestas entomológicas, donde se encontró que 5 comunidades presentaron índices de infestación mayores al 20 %, 3 comunidades presentaron índices de infestación entre 8 y 20 % y 3 comunidades presentaron índices menores al 8 % (Monroy *et al.* 2022).

5.2. Enfermedad de Chagas

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana, es una zoonosis causada por *T. cruzi*, es una enfermedad que puede llegar a ser mortal (WHO, 2021). Fue descubierta en 1909 por Carlos Chagas en Brazil (Heukelbach *et al.* 2021). Esta enfermedad se presenta de mayor forma en regiones rurales pobres de América Latina (Carrada-Bravo, 2004). Actualmente se estima que alrededor de 6 a 7 millones de personas se encuentran infectadas por *T. cruzi*, la mayoría viven en América Latina (WHO, 2021). En los lugares endémicos, se ha observado que la enfermedad se presenta generalmente en los niños (Bern *et al.* 2007). Se estima que el 85 % de los casos de infecciones agudas se presentan en niños menores de 10 años (Cevallos & Hernández, 2011).

Esta enfermedad tiene dos fases, la fase aguda y la fase crónica (WHO, 2021). Durante las primeras 2 semanas de la fase aguda solamente del 1 al 2 % de los pacientes presentan síntomas (Cevallos & Hernández, 2011). Durante esta fase los parásitos se encuentran en el torrente sanguíneo y los síntomas que se pueden presentar son lesiones o inflamación, fiebre, dolor de cabeza, dolor muscular, dificultad para respirar, dolor abdominal e hinchazón de ganglios (WHO, 2021). Los parásitos presentan una preferencia por infectar células del corazón, neuronas, macrófagos y células pertenecientes al sistema nervioso (Cevallos & Hernández, 2011). La mayoría de infecciones agudas no son identificadas, al igual que problemas graves que algunos pacientes desarrollan como miocarditis (Gorbach *et al.* 2004). Se ha hipotetizado que esto sucede por la constante presencia del parásito y el constante ataque del sistema inmune para eliminarlo (Marín-Nieto *et al.* 2007; Bern *et al.* 2007). Esta fase puede durar entre 4 a 8 semanas, luego de este periodo las personas ingresan en la fase crónica (Bern *et al.* 2007).

La fase crónica, por lo general no tiene cura, por lo que permanece con el paciente a lo largo de su vida (Cevallos & Hernández, 2011). Se ha observado que 30 % de los pacientes, presentan complicaciones luego de 10 a 30 años de haber iniciado la infección (Cevallos & Hernández, 2011). En la fase crónica, los parásitos se encuentran en regiones digestivas y cardíacas (WHO, 2021). Los pacientes afectados presentan problemas de inflamación que pueden afectar el corazón y provocar aneurismas por la obstrucción de las venas o arterias (Bern *et al.* 2007). Al pasar el tiempo, el paciente muere por estos problemas (WHO, 2021). En cuanto a las deficiencias en el sistema gástrico, se presentan síntomas como la dilatación del esófago, colon, problemas de reflujo, pérdida de peso y regurgitaciones (Bern *et al.* 2007; Cevallos & Hernández, 2011). Los problemas gástricos son raros en Centroamérica y México, pero son comunes en el Sur de las Amazonas (Cevallos & Hernández, 2011).

5.2.1. Formas de infección

La enfermedad se transmite por medio de la orina u heces de los triatominos cuando estos pican en zonas como la cara y defecan cerca del lugar de la picadura (WHO, 2021). Los parásitos ingresan en la persona cuando se rasca el área picada, empujando las heces u orina hacia la picadura, alguna lesión, boca o incluso a los ojos (WHO, 2021). Lent y Wygodzinsky (1979) mencionan que normalmente la picadura de los triatominos no es dolorosa, lo que les permite a los triatominos picar varias veces a una persona, aumentando el riesgo de infección.

Otras formas de infección pueden ser por medio del consumo de alimentos contaminados con heces u orina de triatominos o marsupiales contaminados con *T. cruzi* (WHO, 2021). Esto representa un problema, ya que luego de pocos días se presentan síntomas graves como fiebres prolongadas, fallas cardiacas, diarrea y/o hemorragias digestivas (Rueda *et al.* 2014). Además, existen otras formas de infección como la transfusión de sangre o trasplantes de órganos de donantes contaminados, accidentes de laboratorio y transmisión congénita de la madre infectada durante el embarazo (Pereira & Pérez, 2003; WHO, 2021). Más de 15 mil casos anuales en Latinoamérica son productos de la infección congénita (Rueda *et al.* 2014).

5.2.2. *Trypanozoma cruzi*

Trypanosoma cruzi es el parásito causante de la enfermedad de Chagas, es un protozoo hemoflagelado que antiguamente pertenecía al orden *Kinetoplastida*, subgénero *Schizotrypanum* (Carrada-Bravo, 2004; Fuentes-Vicente *et al.* 2016; Carmona-Galindo *et al.* 2020). Actualmente, se clasifica dentro del Orden *Cinetoplastos*, género *Trypanosomas* (Cevallos & Hernández, 2011). Su reservorio natural son animales como armadillos, roedores, murciélagos, marsupiales, perros, gatos y primates silvestres (Lent & Wygodzinsky, 1979; Carrada-Bravo, 2004). Una de las cualidades del género *Trypanosoma* es que utilizan un huésped invertebrado, como los triatominos, y un huésped vertebrado para completar su ciclo de vida (Cevallos & Hernández, 2011). En Guatemala, *T. dimidiata* es el vector más importante ya que se distribuye en 16 de los 22 departamentos (Dorn *et al.* 2003).

En la Figura 5.5 se puede observar el ciclo de vida de *T. cruzi*. En mamíferos, el ciclo comienza cuando los tripomastigotes, presentes en las heces de triatominos, penetran en el huésped (Martín-Escolano *et al.* 2022). Estos ingresan por medio de la herida o por medio de membranas mucosas intactas (CDC, 2019). En algunos textos, se menciona que al ingresar, se forma una vacuola alrededor de los tripomastigotes, ya que son fagocitados por células especializadas (Martín-Escolano *et al.* 2022). Según Martín-Escolano y colaboradores (2022), dentro de las vacuolas se diferencian en amastigotes, se replican y luego provocan la lisis celular. En otros textos se menciona que al ingresar estos se diferencian en amastigotes intracelulares (CDC, 2019). Luego de diferenciarse, estos se replican por medio de fisión binaria y se diferencian a tripomastigotes que no se pueden replicar ya que se alargan y adquieren flagelos (Martín-Escolano *et al.* 2022). Al estar diferenciados, se liberan en el torrente sanguíneo, lo que puede provocar la infección de células de diferentes tejidos, estos se replican solamente al ingresar en nuevas células (CDC, 2019). Además, pueden ser captados nuevamente por otros triatominos y replicarse, por lo que el ciclo continua (Martín-Escolano *et al.* 2022). En el vector, los tripomastigotes migran al intestino posterior y se adhieren con los flagelos (Martín-Escolano *et al.* 2022). Se diferencian en epimastigotes en el intestino medio y luego se diferencian a tripomastigotes capaces de infectar (CDC, 2019).

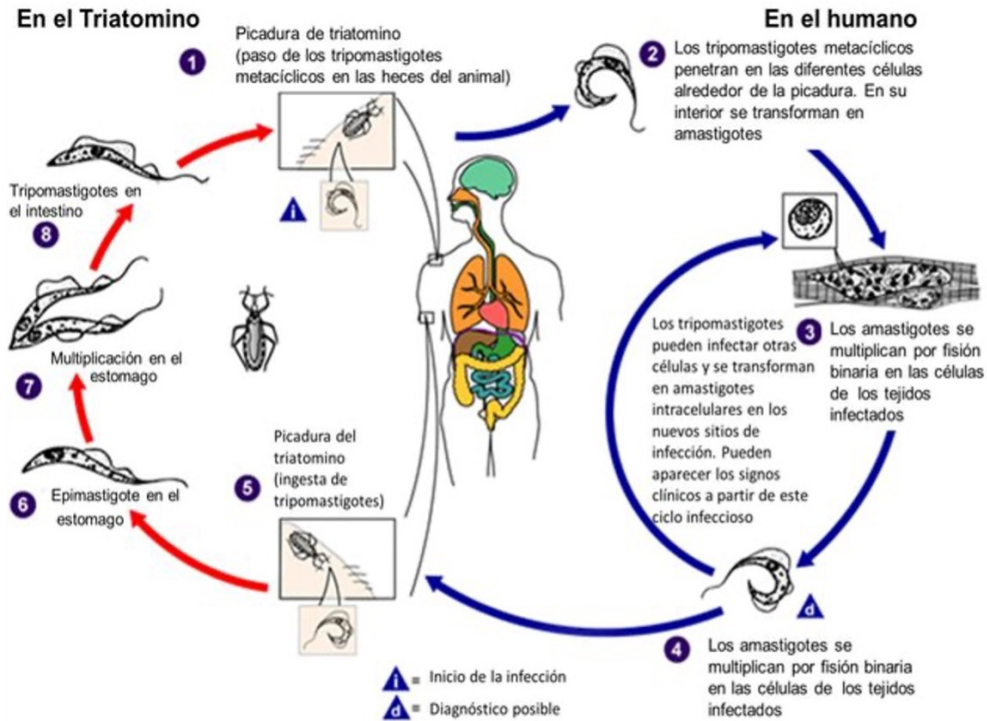


Figura 5.5: Ciclo de vida de *T. cruzi*.

(Chimal, Pineda, 2013).

5.2.3. Unidades discretas de tipificación (DTU)

En los análisis moleculares, se ha observado que *T. cruzi* presenta una amplia variedad en cuanto a su genética, estas se representan en unidades discretas de tipificación, "Discrete Typing Units", DTU (Liano *et al.* 2014). Estos por lo general reflejan cepas locales y su nombre corresponde a *T. cruzi*, Tc (Zingales *et al.* 2009; Bowman *et al.* 2022). Se han identificado 7 DTUs que infectan a los humanos (Messenger *et al.* 2015). La mayoría de DTUs se distribuyen por regiones geográficas, siendo predominantes en algunas localidades (Bowman *et al.* 2022). Por ejemplo, TcII, TcV y TcVI se encuentran en Suramérica, el tipo TcI prevalece en regiones al norte de las Amazonas (Brenière *et al.* 2016). Se ha observado que el TcI también prevalece en Centroamérica (Duffy *et al.* 2013).

Se ha asociado a los diferentes DTUs con resultados clínicos como complicaciones gástricas o el progreso de afecciones cardíacas (Bowman *et al.* 2022). Por lo que se han utilizado técnicas novedosas que buscan ser más precisas como el PCR cuantitativo que puede detectar la presencia del parásito aunque se encuentre en bajas cantidades (Duffy *et al.* 2009; Duffy *et al.* 2013; Lumen Learning Boundless, 2022). La técnica de PCR multiplex permite utilizar más de un par de primers para realizar varias reacciones al mismo tiempo (Lumen Learning Boundless, 2022). Lo que resulta ventajoso ya que se utilizan menos muestras, reactivos y se obtiene mayor información (Lumen Learning Boundless, 2022).

5.2.4. Detección de *T. cruzi*

En las primeras etapas de la enfermedad, se presentan altos niveles de tripomastigotes móviles en la sangre (Bern *et al.* 2007). Por lo que es posible detectar la presencia de *T. cruzi* por medio de frotis, tinción de Giemsa y su respectiva evaluación en el microscopio (Cevallos & Hernández, 2011; CDC, 2019). En la Figura 5.6 se puede visualizar la prueba positiva a *T. cruzi* del frotis de un paciente en fase aguda. Sin embargo, estos procedimientos necesitan mucho tiempo y son poco sensibles, por lo que se utilizan técnicas moleculares (Schijman *et al.* 2011). Además, se ha observado que aunque los pacientes no se sometan a tratamientos, la cantidad de parásitos en la sangre disminuye luego de 90 días, por lo que no es posible detectarlos por microscopía durante la fase crónica (Bern *et al.* 2007). El método de amplificación de ADN, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), tiene la sensibilidad suficiente como para detectar a *T. cruzi* cuando los pacientes se encuentran en la fase aguda, no obstante, en la fase crónica los resultados son variables (Bern *et al.* 2007). Esto puede deberse a distintas variables como volumen de la muestra, la forma de aislamiento, la conservación de la muestra, y factores de amplificación del ADN (Schijman *et al.* 2011).

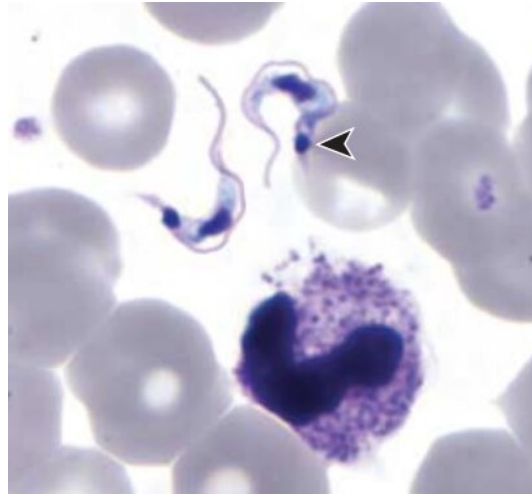


Figura 5.6: Visualización de *T. cruzi* de paciente en fase aguda.

(Bern *et al.* 2007).

Otras formas para diagnosticar la enfermedad son métodos serológicos como ensayos inmunoenzimáticos o pruebas con anticuerpos inmunofluorescentes (Bern *et al.* 2007). El parámetro utilizado por la OGM es un resultado positivo en dos pruebas con metodologías distintas, como el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA), la inmunofluorescencia indirecta (IFI) o hemaglutinación indirecta (Cuna *et al.* 1989; Palacios *et al.* 2000; Llano *et al.* 2014). Esto se realiza con el objetivo de verificar los resultados ya que un solo método no tiene suficiente sensibilidad (Bern *et al.* 2007). Si se obtienen resultados diferentes en las pruebas es necesario realizar más análisis para confirmar los resultados (Bern *et al.* 2007). Para la detección de infecciones congénitas las técnicas de detección van a depender del tiempo de embarazo. Cuando se tienen entre 1 a 2 meses, se toman muestras de sangre de la madre y se extrae sangre del cordón umbilical para realizar un PCR (Bern *et al.* 2007). De las 9 a 12 semanas se realizan pruebas con antígenos inmunofluorescentes (Bern *et al.* 2007).

5.2.5. Tratamientos

Al detectarse en etapas tempranas, como la fase aguda, el tratamiento de la enfermedad es viable, incluso es posible curarla por medio del uso de Benznidazole y nifurtimox (WHO, 2021). El

tratamiento puede ser aplicado en bebés que presentaron la infección de forma congénita, e incluso en pacientes con sistemas inmunes comprometidos (CDC, 2019). Sin embargo, los pacientes bajo estos tratamientos deben ser vigilados por personal capacitado (Cevallos & Hernández, 2011). El primer tratamiento que se utiliza es Benznidazole ya que es el medicamento más tolerado y se absorbe rápidamente en el intestino; actuando contra el tripomastigote y el amastigote (Bern *et al.* 2007). Este medicamento se utiliza principalmente en niños de 2 a 12 años (CDC, 2019), ya que ellos toleran dosis más altas con menores efectos secundarios (Bern *et al.* 2007). Algunos efectos adversos de este medicamento pueden ser alergia, pérdida de peso o insomnio (CDC, 2019).

El tratamiento con nifutimox está aprobado para bebés desde que nacen hasta los 18 años (CDC, 2019). Su actividad también es en contra de los tripomastigotes y amastigotes (Coura & Castro, 2002). Se absorbe en el sistema gástrico y se metaboliza en el hígado (Bern *et al.* 2007). Este medicamento presenta efectos adversos como pérdida de peso, náusea, vómito, dolores de cabeza o vértigo (CDC, 2019). Los niños suelen tolerarlo mejor, aunque las dosis varían de acuerdo a la edad (Bern *et al.* 2007). Los efectos de ambos medicamentos pueden ser reversibles al suspender o reducir la dosis (Cevallos & Hernández, 2011). Sin embargo, al pasar el tiempo, la eficacia de los se reduce (WHO, 2021). Otras metodologías sugieren que es posible continuar el tratamiento contra la enfermedad sustituyendo los medicamentos (Bern *et al.* 2007).

En la fase crónica aún no existe un tratamiento adecuado, debido a complicaciones como cardiopatías o problemas intestinales (Cevallos & Hernández, 2011). Estudios han observado que el uso de Benznidazole en adultos puede retrasar el avance de cardiomiopatías (Viotti *et al.* 2006; Bern *et al.* 2007). Aunque no existen vacunas que prevengan la enfermedad, es necesario que se realicen otras acciones para evitar la transmisión de la enfermedad por el vector (Cevallos & Hernández, 2011).

6.1. Variables

Las variables utilizadas en el estudio fueron los Triatominos y el parásito *T. cruzi*, en el Cuadro 6.1 se presentan la descripción de las mismas.

Tabla 6.1: Variables utilizadas en el estudio.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional
Triatominos	<i>Triatoma dimidiata</i> , son insectos que, de adultos o de pequeños se alimentan estrictamente de sangre de vertebrados. Generalmente, los triatominos se ocultan durante el día y salen de noche para alimentarse	Conteo del número de triatominos recolectados por casa en cada comunidad.
<i>T. cruzi</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i> es un enfermedad de Chagas.	Por medio de los datos obtenidos en el PCR, se detecta su presencia o ausencia.

6.2. Recolección de datos

Se realizó la colecta de triatominos durante los meses de junio y agosto de 2022 en 4 comunidades de Comapa, Jutiapa, Guatemala (Figura 6.1) con apoyo de la Universidad de Texas A&M (TAMU) y la Universidad del Valle de Guatemala (UVG). Se seleccionaron de forma aleatoria 4 comunidades del estudio realizado por Juarez *et al.* (2018). Estas comunidades fueron Buena Vista (BV), Santa Bárbara (SB), San Antonio (SA) y El Comalito (EC). Además, se obtuvieron muestras de una casa en la comunidad El Anonito (EA). Se buscó muestrear 24 casas por comunidad, para realizar encuestas entomológicas de 20 casas, teniendo 4 casas extras en caso no se pudiera muestrear alguna de las elegidas originalmente (Möller, 2016). En total se encuestaron 77 casas, la información del número de casas muestreadas se encuentra en el Cuadro 6.2. No fue posible muestrear más casas en El Comalito, debido a la pandemia de COVID-19.



Figura 6.1: Lugar de muestreo.

A) Localización de Guatemala relativa a América. B) y C) Localización de Jutiapa. D) Localización de Comapa. Las comunidades muestreadas se presentan con cuadros negros. El mapa se elaboró con Qgis 3.28.3-Firenze.

(QGIS Development Team, 2022).

Tabla 6.2: Información de comunidades muestreadas.

Com	Longitud	Latitud	Elevación (msnm)	#Casas
BV	14.13072±2.76E-03	-89.92909±2.90E-03	1292.79±37.81	24
SB	14.14899±4.70E-03	-89.94689±3.40E-03	1220.88±45.46	24
SA	14.12115±1.37E-03	-89.90489±1.12E-03	1157.64±5.21	23
EC	14.10995±8.87E-04	-89.90039±4.14E-04	1133.00±7.52	5
EA	14.12545	-89.92832	1299.00	1

Se presenta la información de las comunidades muestreadas (Com), donde se colocaron las coordenadas decimales (Longitud y Latitud) y elevaciones promedio. Así como el número de casas muestreadas (#Casas).

La encuesta entomológica se realizó en todas las casas utilizando el método de hombre/hora. Este método consiste en que una persona deberá buscar triatominos en una casa por una hora, pero si son dos personas el tiempo se reduce a 30 minutos (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 2012). En el estudio en ocasiones hasta 5 personas buscaban triatominos, pero solamente 2 personas tenían experiencia. Se buscaron a los triatominos en grietas en las paredes, detrás o debajo de muebles a una altura aproximada de 1.55m y se utilizó un método de izquierda a derecha para no dejar espacios sin muestrear. La búsqueda se realizó dentro de la y en áreas cercanas a la casa,

por ejemplo gallineros, corrales o bodegas. Además, se buscó heces de los triatominos, las cuales se observan como líneas blancas o negras en la pared.

Las muestras recolectadas se guardaron en tubos falcon y se rotularon con el ID de la casa, e información de la captura: si se encontró domiciliar o peridomiciliar, la fecha e iniciales de la persona. A cada muestra se le agregó etanol absoluto para preservar el material genético y se conservaron a temperatura ambiente. Luego se eliminó el etanol, se les colocó RNA later (invitrogen) y se almacenaron a -80°C .

6.3. Diseño experimental

6.3.1. Creación y manejo de bases de datos

La base de datos se realizó en las hojas de cálculo de Google con el apoyo de PhD. José Juárez y María Granados. Esta base cuenta con doce pestañas, descritas a continuación:

- “*Key*”: Llave de la base de datos, donde se colocaron variables, las opciones y las pestañas en las que se utilizaban dichas variables.
- “*Modifications*”: modificaciones realizadas en la base. Se colocó la modificación, pestaña y la razón de la modificación.
- “*Data_houses*”: Datos de las casas encuestadas, donde se colocó la comunidad, ID de las casas, la fecha, datos geoespaciales, observaciones y muestras recolectadas.
- “*Dog_inventory*”: Datos de los perros muestreados y de los ectoparásitos recolectados. Datos presentados según el ID del perro.
- “*Dog_analysis_house*”: Datos de los perros muestreados presentados por el ID de las casas.
- “*Mosquitoes_inventory*”: Datos de los mosquitos recolectados presentados por el ID de los mosquitos.
- “*Mosquitoes_analysis*”: Datos de los mosquitos recolectados presentados por el ID de las casas.
- “*Triatoma_dimidiata_inventory*”: Datos de los triatominos recolectados por el ID del triatomo. Se colocaron los datos: la comunidad, ID de la casa, fecha, semana entomológica, ID del insecto, estadio (1 al 5 o M/F), número de triatominos por tubo, lugar de recolección (peridomiciliar o domiciliar), si estaban alimentados o no y comentarios extras.
- “*Triatoma_dimidiata_analysis*”: Datos de los triatominos recolectados por el ID de las casas. Se colocaron los datos: la comunidad, ID de la casa, fecha, semana entomológica, si se encontraban presentes en las casas o no, numero de triatominos por casa, numero de triatominos por estadio y si se encontraron peridomiciliar o domiciliar, numero de triatominos alimentados, presencia o no de ninfas.
- “*Surveys_modif*”: Datos de las encuestas realizadas presentados por casas.
- “*Overview*”: Análisis superficial de las muestras recolectadas.
- “*Corrected_Overview*”: Corrección de los datos analizados en la pestaña de “*Overview*”.

6.3.2. Procesamiento y disección de muestras.

Procesamiento de muestras

El primer procesamiento de las muestras se realizó en el laboratorio de Malaria del Centro de Estudios en Salud de la Universidad del Valle de Guatemala (CES-UVG). Para procesar las muestras se realizó un examen visual de los triatominos para clasificarlos por estadio, por sexo y si se habían alimentado. Para ello se utilizaron ejemplares previamente recolectados y clasificados (Figura 6.2). Este material fue proveído por el PhD. José Juárez, en el CES-UVG. Con el material proveído se clasificaron las muestras colectadas en Comapa. De este análisis se obtuvieron 22 adultos y 93 ninfas. De los cuales se realizó un estudio superficial y se determinó que el 63% (n=115) de los insectos estaban alimentados. Las muestras se rotularon de la siguiente forma:

- TD-IDcasa-número de muestra. Se colocó el número de muestra ya que en ocasiones se encontraron más de un insecto por casa.
- Bnúmero de muestra: para indicar algunos insectos que estaban alimentados, sin embargo, esto no se realizó en todos los triatominos.
- POnúmero: muestras de triatominos no alimentados, pero encontrados en la misma casa.
- TD22ComapaKBnúmero: triatominos recolectados en las trampas colocadas.



Figura 6.2: Ejemplares de triatominos utilizados para clasificar a las muestras recolectadas.

Dissección de muestras.

La disección de las muestras se llevó a cabo en el laboratorio de SHamer en la Universidad de Texas A&M, Estados Unidos, utilizando el protocolo 2016-05-24 del mismo laboratorio. El proceso se realizó en cabinas de bioseguridad nivel 2 utilizando equipo de protección como bata de laboratorio, guantes dobles de nitrilo y mangas desechables.

Previo a la disección, se descongelaron las muestras y se colocaron en bolsas de plástico estériles pequeñas. Se procedió a tomar una fotografía y a medir el largo del cuerpo hasta la cabeza (Figura 12.2). Las muestras se almacenaron a 4°C. Para continuar con el proceso de disección, se desinfectó el lugar de trabajo con cloro al 50% previo a realizar el trabajo y cuando culminó el mismo. Se diseccionaron 116 de las 117 muestras colectadas.

Se rotularon 2 tubos por insecto, ya que uno era para el cuerpo “*body*” y el segundo para las vísceras “*gut*”. Con un par de pinzas se tomó al insecto y se sumergió en un beaker con agua por 10 segundos. Luego se sumergió en otro beaker con cloro al 50% por 15 segundos. Tomando otras pinzas se removió el insecto del beaker con cloro, se sumergió nuevamente en agua destilada por 15 segundos y se colocó en una caja Petri pequeña. El insecto se sujetó con dos pinzas, una en el tórax y la segunda en el abdomen (debajo de las alas) para separar el abdomen del resto del cuerpo. El tórax se colocó en el tubo rotulado como “*body*”. Se sujetó el abdomen del insecto con pinzas, y con otra se extrajo el área posterior del insecto. Se cortó el connexivum con tijeras (Figura 5.1). Luego se abrió la cavidad abdominal para remover las vísceras y colocarlas en el tubo rotulado como “*gut*” junto con la parte trasera. Se tomaron notas sobre puntajes de alimentación, así como notas extras. Los puntajes de alimentación se realizaron de la siguiente forma:

- (1) No había sangre presente, las vísceras estaban disecadas o no se encontraron.
- (2) Presencia de vísceras, pero no hay evidencia de alimentación.
- (3) Pequeñas trazas de alimentación. Estas se visualizaron como un color oscuro en las vísceras.
- (4) Evidencia de alimentación, pero escasa o no fresca. Se visualizó como sangre seca o coagulada.
- (5) Evidencia de alimentación evidente y fresca.

Luego de la disección las muestras se almacenaron a -20°C y/o -80°C. Luego de realizar los procesos, se colocaron las herramientas utilizadas en el beaker con cloro y la caja Petri se descartó en la bolsa de desechos biológicos. Antes de continuar con otro insecto el área era desinfectada con DNA Away (Thermo Scientific) y las herramientas se limpiaron con etanol. Al finalizar con los insectos, se removieron las mangas descartables y los guantes superficiales para ser descartados en bolsas de desechos biológicos antes de moverse a otra área. El cloro y agua destilada utilizados se descartaron en el drenaje. Se colocó cloro al 10% en los beakers por 30 minutos, se lavaron con agua y se dejaron con agua por 30 minutos. Las herramientas utilizadas se lavaron con agua, se esterilizaron con el flameador y se remojaron en etanol.

Cuando se trataban de triatominos pequeños, estadios 1 al 3, estos se lavaron con cloro y agua como se mencionó anteriormente y se introdujeron en un tubo. Luego con una pinza se aplastó el insecto. No fue posible determinar los puntajes de alimentación, por lo que solamente se tomó nota de si el triatomo se encontraba alimentado, un poco alimentado o no alimentado.

6.3.3. Extracción de ADN

Para realizar la extracción de ADN se utilizó el protocolo “*MagMAX-96 DNA Multi-Sample Extraction protocol for kissing bug DNA extraction*”, con el kit comercial de Applied Biosystems

MagMAX-96 DNA Multi-Sample Kit. Se trabajaron en baches de 11 muestras, de la cual la número 6 fue un control negativo de extracción de ADN. Se añadieron 100ul de buffer de lisis, preparado con 92ul de buffer de proteinasa K, 8ul de proteinasa K y se mezcló la muestra en un vortex por 15 segundos. Si la cantidad de tejido inicial era mayor a 10mg, la cantidad de buffer de proteínasa K y proteinasa se duplicada o triplicaba. Para lisar las muestras estas se incubaron a 55-56°C en un agitador toda la noche. Se centrifugaron las muestras lisadas a 6000g por 5 minutos. Se preparó la mezcla de “RNase A” (Cuadro 6.3) y la mezcla “DNA Binding Beads” (Cuadro 6.4).

Tabla 6.3: Preparación de la mezcla “RNase A”.

Componente	Volumen por muestra (ul)	Volumen para 13 muestras (ul)
“RNase A”	5	65
Agua libre de nucleasas	95	1,235
Volumen total de mezcla	100	1,300

Preparación de la mezcla “RNase A” para una y trece reacciones.

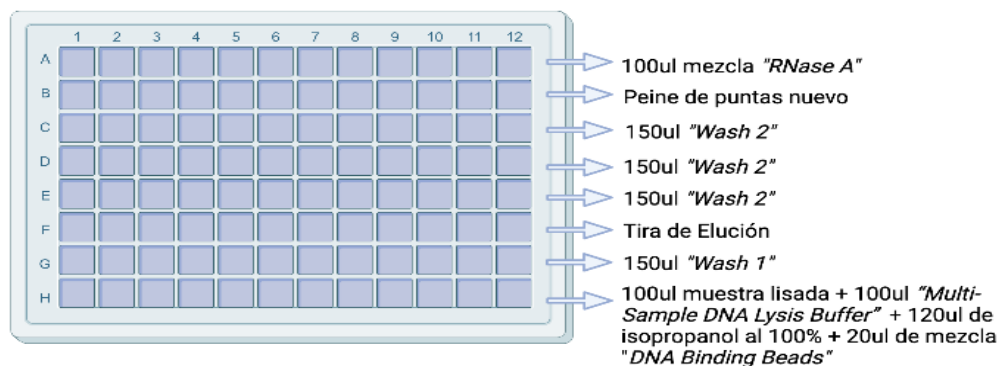
Tabla 6.4: Preparación de la mezcla “DNA Binding Beads”.

Componente	Volumen por muestra (ul)	Volumen para 13 muestras (ul)
“DNA Binding Beads”	8	104
Agua libre de nucleasas	12	156
Volumen total de mezcla	20	260

Preparación de la mezcla “DNA Binding Beads” para una y trece reacciones.

Luego en las filas de una placa de 96 pozos se añadieron los siguientes componentes (Figura 6.3):

- Fila A: 100ul de la mezcla de “RNase A”.
- Fila B: añadir un peine de puntas nuevo.
- Fila C: 150ul de “Wash 2”.
- Fila D: 150ul de “Wash 2”.
- Fila E: 150ul de “Wash 2”.
- Fila G: 150ul de “Wash 1”.
- Fila H:
 - 100ul de muestras lisadas.
 - 100ul de “Multi-Sample DNA Lysis Buffer”.
 - 120ul de isopropanol al 100 %.
 - 20ul de la mezcla de “DNA Binding Beads”.



Created in BioRender.com bio

Figura 6.3: Mapa de componentes de la placa de 96 pocillos.

La fila H se mezcló por pipeto hasta asegurar que la mezcla se encontraba homogénea. A la tira de elución se le agregaron 40ul de "Elution buffer 1" y se encendió el equipo KingFisher Duo, modelo KF Duo, ID 812. Se cargó la placa y la tira de elución en el equipo asegurándose que la perforación en la tira de elución quedara enfrente a la persona. Se presionó el botón OK y se utilizó el protocolo establecido: "A25597_tissue_cells_KBs". Se rotularon los tubos con el ADN recuperado. Cuando el equipo mostrara la señal, se removió la placa y se agregaron 120ul de isopropanol al 100% y 100ul de "Lysis Buffer" en la fila A. Se colocó la placa y se continuó con la corrida. Ante la segunda señal del equipo se removió la tira de elución y se añadieron 40ul de "Elution buffer 2". Se colocó nuevamente la tira y se continuó con la corrida. Al terminar el protocolo se removió la tira de elución y se transfirieron las muestras a los tubos rotulados. Se revisó que el orden y los números correspondieran a cada muestra.

6.3.4. Detección de la presencia de *T. cruzi* en triatominos

Se realizó un PCR en tiempo real (qPCR) para detectar la presencia de *T. cruzi* en las muestras. La reacción se realizó con 3ul de ADN previamente extraído, primers con un volumen de 0.3ul cada uno, sonda con concentración de 0.45uM, se utilizó un mix de enzimas de PCR FailSafe con el PreMix E. Se corrió en el instrumento Stratagene MxPro3000 de Agilent Technologies. El volumen de reacción fue de 50ul. Se buscaba amplificar una región de 166pb de ADN repetitivo microsatélite nuclear utilizando sondas TaqMan. Los primers utilizados fueron Cruzi 1 5' -ASTCGGCTGATCGTTTTTCGA-3 y Cruzi 2 5' -AATTCCTCCAAGCAGCGGATA-3 (Duffy *et al.* 2013). Y se utilizó la sonda Cruzi 3 5' -Fam-CACACACTGGACACCAA-NFQ-MGB-3 (Duffy *et al.* 2013).

Además, se agregó un control negativo con agua libre de ADN y controles positivos de ADN recuperados del macaco *Macaca fascicularis*. Las condiciones del termociclador fueron las siguientes:

- Desnaturalización: tres minutos y medio a 95°C.
- 36 ciclos de 30 segundos a 95°C.
- 36 ciclos de 50 segundos a 60°C.
- 36 ciclos de 40 segundos a 72°C.
- Extensión final de cinco minutos a 72°C.
- Hold a 4°C.

6.3.5. Caracterización genética de las cepas de *T. cruzi*.

Para la caracterización se utilizó el protocolo “Probe-based rt-PCR for round 1 Strain typing SL-IR of *T. cruzi*”. Se realizó un qPCR multiplex para caracterizar genéticamente las cepas de *T. cruzi* en las muestras positivas con el kit QIAGEN Multiplex PCR Kit. La reacción se realizó con 10ul de Master Mix de QIAGEN, 2ul de ADN de las muestras positivas, 2.4ul de agua y la información presentada en el Cuadro 6.5

Tabla 6.5: Secuencia, concentración y volumen de oligonucleótidos para el master mix del qPCR multiplex.

Oligo	Secuencia (5´-3´)	Concs(uM)	Vol(ul)
UTCC-FW	CAGTTTCTGTACTATATTGGTACG	0.5	1
TcI-Rv	CGATCAGCGCCACAGAAAGT	0.5	1
TcII/V/VI-Rv	CGATCAGCGCCACAGAAAGT	0.5	1
TcIII-Rv	CATTTTTATGAGGGGTTGTTTCG	0.5	1
TcIV-Rv	CATTTTTATTAGGGGTTGTACG	0.5	1
TcI probe	FAM-CTC+CTTC+AT+GTT+TGT+GTCG-BHQ1	0.1	0.2
TcII/V/VI probe	HEX-TATA+CC+CATATA+TATA+TA+GC-BHQ1	0.05	0.1
TcIII probe	Quasar670-AATCGCG+TGTATGCACCGT-BHQ3	0.05	0.1
TcIV probe	CAL Fluor Red610-GCCCCGACGCCGTCCGTG-BHQ2	0.1	0.2

Se presenta la información de los Oligonucleótidos (Oligo), concentraciones (Conc) y volumen para una reacción (Vol). Las secuencias fueron obtenidas de Cura *et al.* 2015 y Curtis-Robles *et al.* 2018.

Se utilizó un volumen final de 18ul por reacción y los controles positivos PS1323 1:100 (TcIV), Silvio 1:10000 (TcI) y TcII 1:10000 (TcII/V/VI) (Cura *et al.* 2015). Para el DTU TcIII no se contaba con un control positivo. Se corrió el qPCR multiplex en el instrumento Stratagene MxPro3000 de Agilent Technologies. Con las condiciones: 15 minutos a 95°C, 40 ciclos de 30 segundos a 95°C y 1 minuto a 60°C. En las muestras a las que no se pudo caracterizar el DTU se volvió a realizar el procedimiento anterior, duplicando la concentración de ADN y realizando diluciones (1:10). Las muestras que no presentaron un resultado positivo luego de modificar las concentraciones de ADN se consideraron como no tipificables.

6.4. Análisis experimental

6.4.1. Verificación y análisis de base de datos

Para la verificación de la base de datos se contaba con las hojas utilizadas para tomar los datos durante los viajes a las comunidades. Se revisó que todos los datos concordaban con los presentados en las hojas de campo. Luego estos datos se verificaron con las muestras almacenadas dentro de la refrigeradora de -80°C ubicada en el laboratorio de Malaria dentro del CES-UVG. Se verificó que todas las muestras de la base de datos correspondieran a las muestras físicas. El análisis de la base de datos realizado fue por medio de Microsoft Excel para Mac, versión 16.72 (23040900). Lo primero que se realizó fue unir los datos de otras pestañas en la pestaña de “Data_houses” para tener una pestaña donde se pudiera visualizar las muestras recolectadas por casa, este proceso se demuestra en el diagrama siguiente (Figura 6.4).

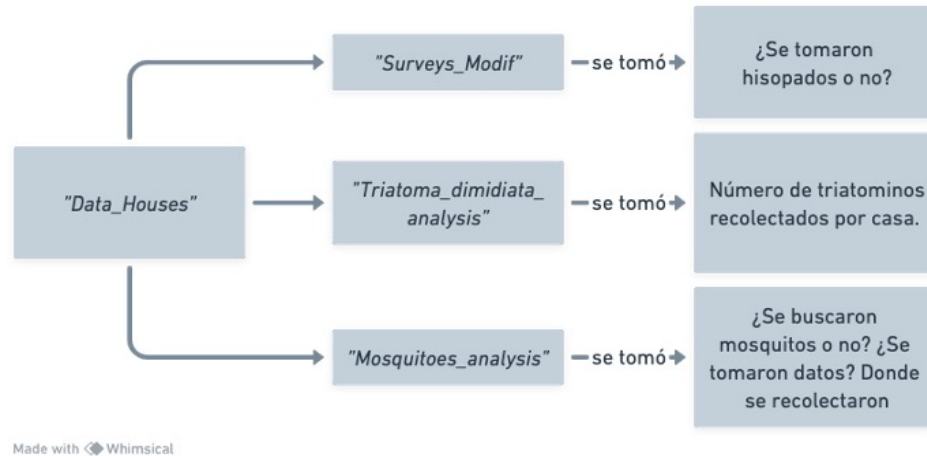


Figura 6.4: Recolección de datos para elaborar la pestaña de “Data_houses”.

A demás, se realizó una tabla dinámica para realizar un resumen de todas las muestras, la cual se tituló: “*Overview of samples collected on june - november of 2022*”. Esta tabla dinámica se dividía por comunidad y se colocaron los datos de las trampas. Se colocaron datos de:

- “Houses”: La cantidad de casas muestreadas.
- “D_Ticks”: Número de perros con garrapatas.
- “D_Fleas”: Número de perros con pulgas.
- “D_Com”: Número de perros por comunidad.
- “T_Com”: Número de casas con triatominos por comunidad.
- “T_Ninfs”: Número de ninfas por comunidad.
- “T_Adults”: Número de triatominos adultos por comunidad.
- “TNinfs_Per”: Número de casas con ninfas encontradas peridomiciliar por comunidad.
- “TAdults_Per”: Número de casas con triatominos adultos encontrados peridomiciliar por comunidad.
- “TNinfs_Intra” : Número de casas con ninfas encontradas intradomiciliar por comunidad.
- “TAdults_Intra”: Número de casas con triatominos adultos encontrados intradomiciliar por comunidad.
- “T_Fed”: Número de triatominos alimentados, que se encontraron por comunidad.
- “Mosq”: Número de mosquitos por comunidad.
- “M_Com”: Número de casas con mosquitos.
- “M_Aedes_F”: Número de mosquitos *Aedes aegypti* hembras.
- “M_Culex_F”: Número de mosquitos *Culex* hembras.
- “M_UnI_F”: Número de mosquitos no identificados.
- “F_Swab”: Número de hisopados de piso realizados por comunidad.

- “*W_Swab*”: Número de hisopados de pared realizados por comunidad.
- Total: Cantidad total de muestras.

Además de la tabla dinámica mencionada anteriormente, se realizó un cuadro con los porcentajes de las muestras. Este cuadro se tituló como: “*Percentages of samples collected on june - november of 2022*”. Las cuales presentaban datos por comunidad como: “%*D_Com*”, “%*D_Ticks*”, “%*D_Fleas*”, “%*D_Blood*”, “%*D_Swab*”, “%*Infestation*”, “%*Colonization_P*”, “%*Colonization_I*”, “%*W_Swab*”, “%*M_Com*”, “%*M_Aedes*”, “%*M_Culex*”, “%*M_UnI*”.

La visualización de resultados de la base de datos se realizó en dos partes. La primera parte consistió en realizar el mapa Qgis 3.28.3-Firenze. Donde tomando 4 datos aleatorios de las casas de las comunidades se localizaron las comunidades dentro del mapa proveído por Qgis. El ID utilizado fue: ID[.EPSG",4326]], con conversión “*Popular Visualisation Pseudo-Mercator*” y método “*Popular Visualisation Pseudo Mercator*”. Una vez colocados los puntos se procedió a realizar zoom out para identificar las diferentes vistas. Luego se realizó zoom in para colocar las comunidades y exportar la imagen del mapa. Por medio de la página web Canva (<https://www.canva.com/>) se colocaron los datos a manera de presentar el mapa.

6.4.2. Determinación de la prevalencia de infección por *T. cruzi* en triatominos.

Luego de correr el RT-PCR se consideraron como positivas aquellas muestras cuyo umbral de ciclo (Ct, por sus siglas en inglés “*Cycle treshold*”) superará el umbral (Figura 6.5, color azul). Añadido a esto se analizó la forma de la curva, donde al tener una forma normal (Figura 6.5, color verde) se tomaba como resultado positivo. Pero al estar aplanada o muy cercana al umbral (Figura 6.5, color rojo) se tomaba como resultado negativo.

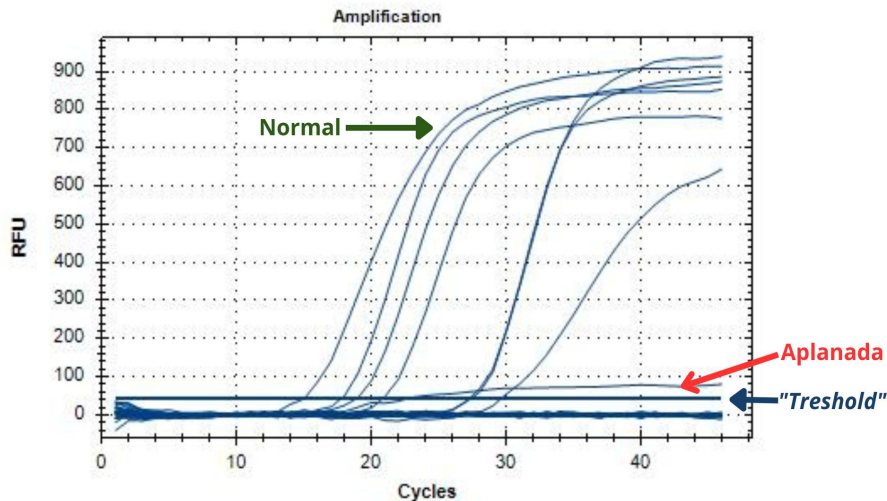


Figura 6.5: Curvas de RT-PCR para la detección de *T. cruzi*.

En la figura se muestra el umbral o *treshold* (color azul), un ejemplo de lo que se considera una curva aplanada (color rojo) y un ejemplo de una curva normal (color verde).

Para determinar la prevalencia de infección por *T. cruzi* se calculó la proporción de triatominos infectados dividido la cantidad de triatominos recolectados (Botto-Mahan *et al.* 2020). En el caso de la

prevalencia por comunidad se calculó con la cantidad de triatominos por comunidad, la prevalencia general se calculó utilizando todos los datos.

6.4.3. Determinación de perfiles genéticos de *T. cruzi*

Para determinar a que cepa pertenecían las muestras positivas para *T. cruzi* se realizó un qPCR multiplex. Se tomaba como resultado positivo los criterios descritos en el apartado anterior: Confirmación de la presencia de *T. cruzi*, ya que se buscaba que las muestras presentaran un valor Ct mayor al umbral y que la curva presentara una forma normal (Figura 6.5, color verde). Para determinar los tipos de cepas o DTUs, se determinó con que señal de fluorescencia amplificó la muestra (Figura 6.6). Cuando la muestra amplificaba con el fluoróforo FAM (Figura 6.6, color rojo) se tomaba como positivo para TcI; al amplificar con el fluoróforo HEX (Figura 6.6, color azul) se tomaba como positivo para TcII/V/VI; para TEX 615 (Figura 6.6, color verde) se tomaba como positivo para TcIV. No fue posible determinar si el tipo de DTU TcIII estaba presente ya que no se contaba con el control positivo. Si las muestras eran positivas para *T. cruzi* pero no presentaban un valor Ct en el PCR multiplex estas se tomaban como no tipificables.

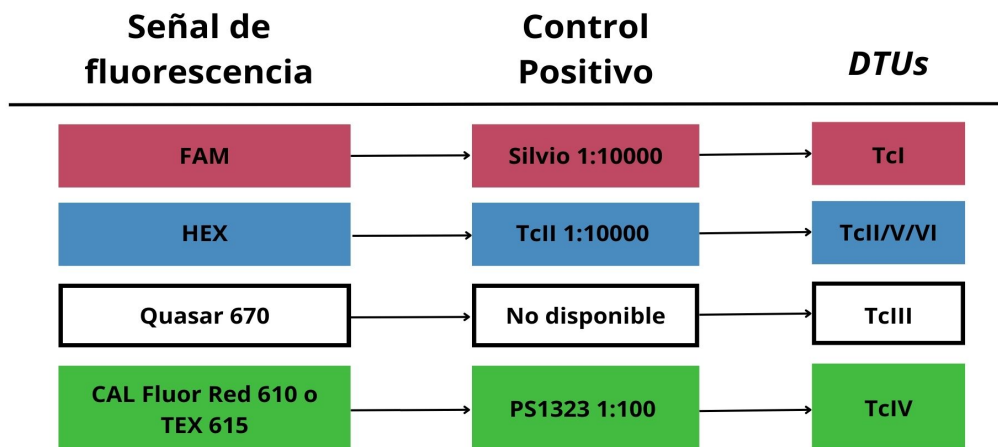


Figura 6.6: Determinación del DTU según la señal de fluorescencia.

Modificado de Cura *et al.* (2015).

6.4.4. Análisis estadístico.

Para el análisis se utilizó el software de R y RStudio con la versión 2022.12.0+353. Se realizó un modelo lineal generalizado (GLM) con familia binomial. Como variable de respuesta se utilizó: qPCR_Results, que hace referencia a si un triatomo es positivo o negativo para *T. cruzi*. Para ello se realizaron los siguientes pasos:

1. Se cargó la base de datos a una variable utilizando el paquete readxl (Wickham, Bryan, 2023).
2. Cambio de los tipos de variables y se eliminación de NAs.

3. Se realizó un histograma de la variable de respuesta, utilizando el paquete ggplot2 (Wickham, 2016).
4. Se verificaron datos atípicos utilizando “Cleveland plots”.
5. Se terminó que las variables predictoras no presentaran colinealidad por medio de HightatLibV10 y el paquete lattice. Se consideró como aceptable el obtener un coeficiente de Pearson menor a 0.7 y mayor a -0.7. (Sarkar, 2008).
6. Se determinó el Factor de Inflación de la Varianza (VIF) utilizando el paquete MASS (Venables, Ripley, 2002). Se consideró como aceptable obtener un VIF menor o igual a 3.

Para formar los modelos candidatos se utilizó una familia binomial ya que la variable de respuesta era: Positivo o negativo (qPCR_Result). Se elaboraron 14 modelos distintos, los cuales variaron en las siguientes variables predictoras:

- Community: Comunidad donde se recolectaron los triatominos
- Household: ID de la casa donde el triatomino se recolectó
- Elev_msnm: Elevación de la casa
- Life_Stage: Estadio del triatomino
- Per_Dom: Lugar donde se encontro el triatomino (Peridomiciliar o Intradomiciliar)
- Measurement: Medida del triatomino
- P1: Edad de la parte más vieja de la casa.
- Int_Td_5: ¿Cuándo fue la última vez que se observaron triatominos
- Intradomiciliarmente? En el último mes, último año o nunca.
- Per_Td_5: ¿Cuándo fue la última vez que se observaron triatominos Peridomiciliarmente? En el último mes, último año o nunca.
- PA7: Cantidad de perros en la casa.
- Yard8: ¿Los perros pasan tiempo en el jardín? Sí o no.
- Community8: ¿Los perros pasan tiempo en la comunidad? Sí o no.
- PA9: ¿Los perros duermen Peridomiciliarmente o Intradomiciliarmente?
- PB9: ¿Las gallinas duermen Peridomiciliarmente o Intradomiciliarmente?
- PA10: ¿Dónde ponen huevos las gallinas?
- PB12: ¿Utiliza algo para cuidar la salud de las gallinas?
- Int13: ¿Ha visto alguno de siguientes animales intradomiciliarmente? Zarigüeyas, ratas, armadillos, coyotes, ratones, mapaches, zorrillos, zorros u otros animales.
- Per13: ¿Ha visto alguno de siguientes animales peridomiciliarmente? Zarigüeyas, ratas, armadillos, coyotes, ratones, mapaches, zorrillos, zorros u otros animales.
- Selv13: ¿Ha visto alguno de siguientes animales selváticamente? Zarigüeyas, ratas, armadillos, coyotes, ratones, mapaches, zorrillos, zorros u otros animales.
- PA14: ¿Utiliza insecticidas o pesticidas para prevenir o eliminar insectos? Sí o no.

- PB14: ¿Utiliza repelentes para prevenir o eliminar insectos? Sí o no.

Se realizó un modelo complejo con todas las variables y un modelo nulo para determinar el modelo más parsimonioso que logre explicar los datos. El cual se evaluó utilizando el criterio de información de Akaike para muestras pequeñas (AICc), utilizando un criterio de selección de $\Delta AICc < 2$ para los modelos igualmente parsimoniosos. Se seleccionó el mejor modelo utilizando el paquete MuMIN (Bartoń, 2022). Se validó el modelo por medio de la prueba de Diagnóstico de Residuales (DHARMA), utilizando el paquete con el mismo nombre (Hartig, 2022). Donde se consideró como válido el modelo que aprobara 4 de las 6 pruebas.

7.1. Verificación y análisis de base de datos

En total, se recolectaron 117 muestras de triatominos, de las cuales 2 se obtuvieron de trampas colocadas en casas muestreadas. De los 115 triatominos recolectados, la mayoría pertenecían a la comunidad Buena Vista, donde se observa la predominancia de ninfas colectadas en el área intradomiciliar (Figura 7.1). Esta comunidad presentó un índice de infestación del 37.5%, con una colonización intradomiciliar del 8.3% y peridomiciliar del 20.8% (Figura 7.2).

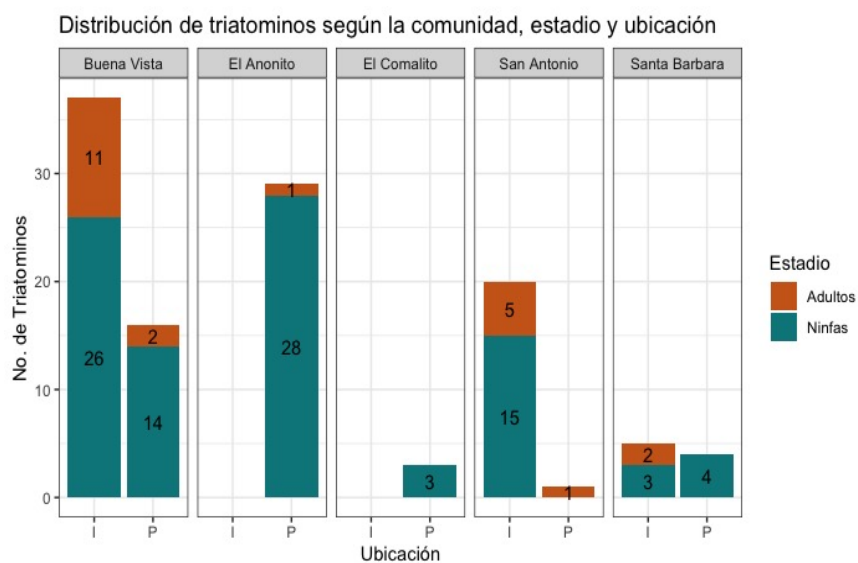


Figura 7.1: Distribución de triatominos según la comunidad, estadio y la ubicación.

I hace referencia a los triatominos localizados intradomiciliar, mientras que P hace referencia a los localizados peridomiciliar. En color naranja se pueden observar a los adultos recolectados, mientras que en color turquesa se observan a las ninfas (estadios 1 al 5).

En la comunidad El Anonito, se encontraron más las ninfas recolectadas en el área peridomiciliar (Figura 7.1). En el caso de la comunidad de San Antonio la mayoría de las muestras fueron colectadas en el área intradomiciliar (Figura 7.1), donde se obtuvo un índice de infestación del 17.4 % y un índice de colonización intradomiciliar del 8.7 % (Figura 7.2). No se observaron diferencias significativas entre las áreas de recolección, o los estadios de los triatominos recolectados en Santa Bárbara (Figura 7.1). Esta comunidad presentó un índice de infestación del 25 %, con 12.5 % de colonización peridomiciliar y un 4.2 % de índice de colonización intradomiciliar (Figura 7.2). En la comunidad El Comalito se obtuvo un índice de infestación del 20 % (Figura 7.2), solamente se recolectaron 3 ninfas en el área peridomiciliar, lo que representaría un 20 % de colonización peridomiciliar (Figura 7.2).

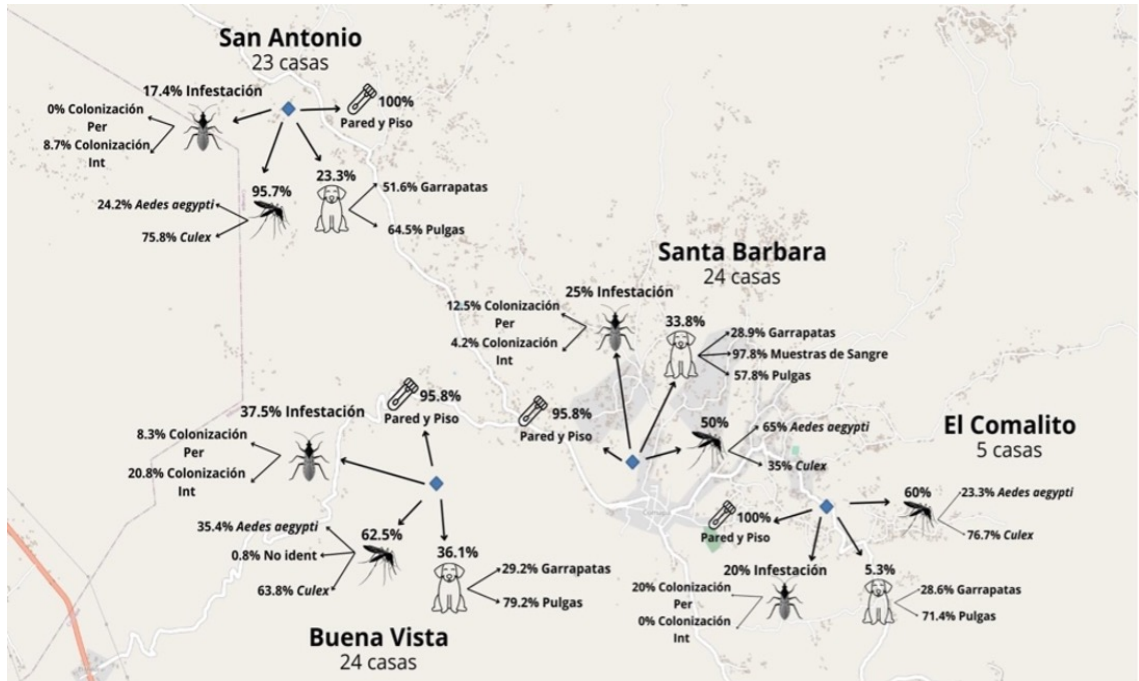


Figura 7.2: Información obtenida del análisis de la base de datos.

Además de la recolección de triatominos, se obtuvieron otros elementos como muestras de sangre y ectoparásitos de perros, muestras de mosquitos e hisopados de pared y piso (Figura 7.2). En Buena Vista se observa que el 36.1 % de los hogares contaba con la presencia de perros. De ellos se obtuvieron ectoparásitos, donde el 79.2 % de las muestras contaba con pulgas. Se obtuvieron muestras de mosquitos del 62.5 % de los hogares muestreados, donde predomina la presencia del género *Culex spp.* (63.8 %). En esta comunidad solamente fue posible muestrear el 95.8 % de los hogares con hisopados de pared y piso.

Se observó la presencia de perros en el 23.3 % de las casas de San Antonio. De estas muestras, el 64.5 % presentó pulgas (Figura 7.2). Se obtuvieron muestras de mosquitos del 95.7 % de las casas, donde predomina el género *Culex spp.* (75.8 %). Además, fue posible muestrear el 100 % de las casas con hisopados. En Santa Bárbara, el 33.8 % de los hogares contaba con perros. Solamente fue posible obtener muestras de sangre del 97.8 % de los perros, obteniendo pulgas del 57.8 % de las muestras. Fue posible tomar muestras de mosquitos de la mitad de los hogares, donde el 65 % pertenecían a la especie *Aedes aegypti*. Además, se obtuvieron hisopados del 95.8 % de los hogares. En cuanto a la comunidad El Comalito, solamente el 5.3 % de los hogares contaban con perros. De ellos el 71.4 % presentaba pulgas. Se obtuvieron muestras de mosquitos del 60 % de hogares, de las cuales predominaba el género *Culex spp.* (76.7 %). En esta comunidad fue posible muestrear todas las casas con hisopados de pared y piso.

7.2. Detección de la presencia de *T. cruzi*.

Se encontraron triatominos en 21 casas de las 76 muestreadas. De las muestras recolectadas se buscaba detectar la presencia de *T. cruzi* por medio de qPCR, los resultados se presentan en la Figura 7.3

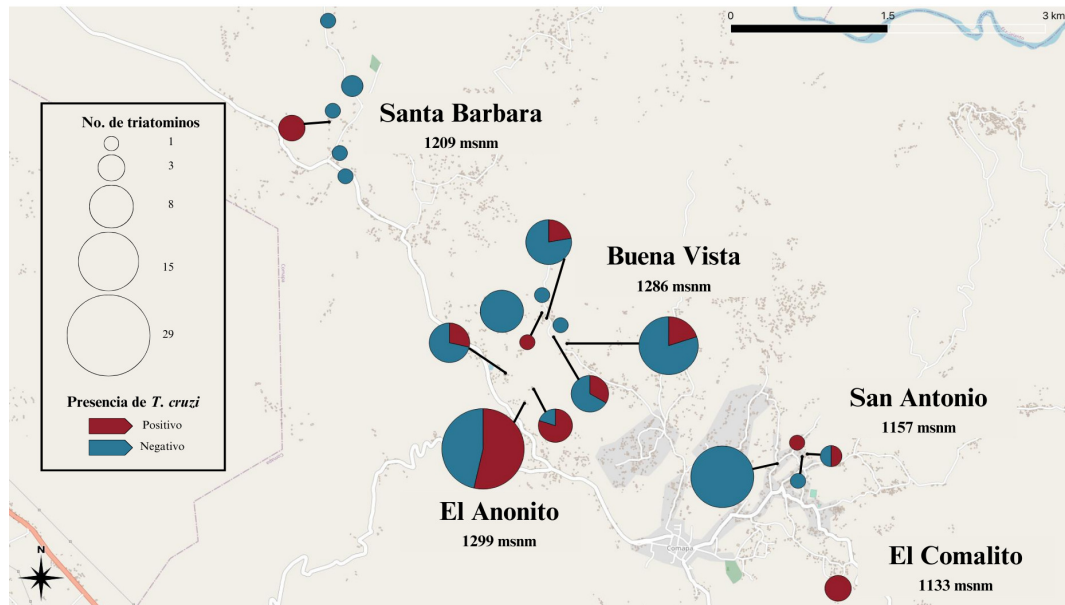


Figura 7.3: Distribución de triatominos y detección de la presencia de *T. cruzi*.

Distribución de triatominos según comunidad, donde el tamaño de círculo representa el número de triatominos colectados. En gráficos de pie se presenta la cantidad de triatominos encontrados por casa, donde el color rojo representa la presencia de triatominos positivos para *T. cruzi*, mientras que el color azul representa los triatominos negativos.

Tabla 7.1: Prevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en triatominos.

Comunidad	NTP	NCP	Prevalencia
Buena Vista	14 (n=53)	6 (n=9)	26 %
El Anonito	15 (n=29)	1 (n=1)	52 %
El Comalito	3 (n=3)	1 (n=1)	100 %
San Antonio	2 (n=21)	2 (n=4)	10 %
Santa Barbara	3 (n=9)	1 (n=6)	33 %
General	37 (n=115)	11 (n=21)	32 %

Se presenta la información de la prevalencia de *T. cruzi*, como el número de triatominos positivos (NTP), el número de casas positivas (NCP) y la prevalencia de infección (Prevalencia).

En la Figura 7.3 se puede observar que, de 77 casas muestreadas, 21 casas presentaron triatominos (27.3%). De estas casas el 52.4% (n=11) presentaron por lo menos un triatomino infectado con *T. cruzi*. La comunidad con mayor presencia de triatominos positivos para *T. cruzi* fue Buena Vista, ya que 6 de 9 casas presentaban un triatomino positivo (Figura 7.1). Además, presentó una prevalencia de infección del 26% (Cuadro 7.1). En El Anonito solamente se muestro una casa, por lo que la prevalencia de la infección resultó en un 52% (Cuadro 7.1). La comunidad San Antonio presentó dos de cuatro casas positivas para *T. cruzi* (Figura 7.1) y una prevalencia de infección del 10% (Cuadro 7.1).

En Santa Bárbara solamente 1 de 6 casas presentó triatominos positivos (Figura 7.1), sin embargo, la prevalencia de infección fue del 33 % (Cuadro 7.1). La comunidad El Comalito presentó un 100 % de prevalencia (Cuadro 7.1), pero solamente se encontró una casa con triatominos (Figura 7.1). En cuanto a los triatominos recolectados en las trampas, se encontró que uno fue positivo para *T. cruzi*. En general, se puede observar que la prevalencia de infección para las comunidades muestreadas para la municipalidad de Comapa fue del 32 % (Cuadro 7.1).

7.3. Determinación de los tipos de cepas de *T. cruzi*.

Se realizó un qPCR multiplex de los 38 triatominos positivos para *T. cruzi* para identificar las cepas presentes.

Tabla 7.2: Determinación de tipos de cepas de *T. cruzi*.

Comunidad	Neg	Pos	TcI	No tipificable
Buena Vista	39	14	12	2
El Anonito	13	15	13	2
El Comalito	0	3	3	0
San Antonio	19	2	2	0
Santa Barbara	6	3	3	0
Trampas	1	1	0	1
General	78	38	33	5

Fue posible identificar el DTU TcI en 33 muestras. Solamente en 5 muestras no fue posible determinar el DTU. Las comunidades Buena Vista y El Anonito presentaron el mayor número de triatominos tipificados para TcI.

7.4. Predicción de infectividad de *T. cruzi* en triatominos.

Tabla 7.3: Resumen de la selección de modelo lineal generalizado con familia binomial.

Modelo candidato	LogLik	AICc	Δ AICc	wAICc
Lugar_Prevencción				
qPCR_Result Per_Dom + Int_Td_5 + Per_Td_5 + PA14 + Elev_msnm + PB14	38.541	94.9	0.00	0.837
Medida_Lugar				
qPCR_Result Per_Dom + Meassurement + Elev_msnm	-46.179	100.8	5.93	0.043
Características_Lugar				
qPCR_Result Life_Stage + Per_Dom + Elev_msnm + Meassurement	-39.581	102.0	7.12	0.024

En el cuadro se presenta el logaritmo de verosimilitud (LogLik), el valor del criterio de información de Akaike para tamaños de muestra pequeños (AICc), el cambio o delta del valor AICc (Δ AICc) y el peso de los valores AICc (wAICc).

Se obtuvo el modelo más parsimonioso: Lugar_Prevencción. El cual incluye variables como el lugar de colección de triatominos (Per_Dom), la elevación de la casa (Elev_msnm), si se han realizado avistamientos de triatominos de forma intradomiciliar (Int_Td_5), peridomiciliar (Per_Td_5) y

los sistemas de prevención de los habitantes (PA14 y PB14). Esto se puede observar en el Cuadro 7.3

Tabla 7.4: Descripción de parámetros para la predicción de la infectividad de *T. cruzi* en triatominos.

Variable	β	SE	LI	LE
Lugar_Prevencción				
Intercepto	-8.69823	6955.90913	-355.374650128	2012.2070774
Per_Dom*	-37.39616	6955.88144	NA	512.2633531
Int_Td_5**	49.04216	7428.80637	NA	383.7851009
Per_Td_5_Never**	12.65477	2608.23310	-131.224133019	NA
Per_Td_5_Year**	NA	NA	NA	NA
Per_Td_5_Yes**	0.10992	1.04110	-1.954039504	2.2734467
PA14***	-2.94633	1.82470	-7.067838362	0.2746055
Elev_mnsm	0.03551	0.01570	0.008577948	0.0745747
PB14***	23.57115	4523.03683	-510.312570157	NA

En el cuadro se incluye el tamaño del efecto (β), error estándar (SE), límite inferior (LI) y límite superior (LE) con un intervalo de confianza al 95 % para la predicción de la presencia de *T. cruzi* en triatominos.

Niveles de referencia:

*Nivel de referencia: Intradomiciliar.

** Nivel de referencia: Mes

*** Nivel de referencia: No

La variable de elevación (Elev_mnsm) fue la única variable en presentar un efecto claro, positivo, sobre la predicción de la presencia de *T. cruzi* en triatominos. Las variables Per_Td_5 y PA14 se observa que no tienen un efecto claro sobre el modelo. No es posible confirmar ni negar que las demás variables presenten un efecto claro sobre la presencia de *T. cruzi* en triatominos.

Análisis de resultados

Entre 6 y 7 millones de personas, alrededor del mundo son afectados por la enfermedad de Chagas, la cual es causada por el parásito *T. cruzi* (Rassi, Marin-Neto, 2010; WHO, 2021). En Guatemala, *T. dimidiata* es el vector de la enfermedad de Chagas que genera mayor preocupación (Castro-Arroyave *et al.* 2020). Se ha observado que los focos de transmisión de la enfermedad ocurren en los departamentos de Chiquimula y Jutiapa (Peterson *et al.* 2019). Por lo que el presente estudio pretende determinar la presencia de *T. cruzi* en muestras de triatominos colectados en Comapa, Jutiapa, Guatemala. Fue posible cumplir el objetivo de este estudio por medio de técnicas moleculares como qPCR. Así como técnicas de campo, como el método hombre/hora, y manejo de bases de datos. Es importante recalcar que la base de datos no se encuentra disponible para el público en general ya que aún se encuentran trabajando en proyectos individuales con las demás muestras recolectadas.

En 2014 se reportó que la municipalidad de Comapa, Jutiapa, Guatemala presentaba una tasa de infestación del 25 %, n=472 (Bustamante *et al.* 2014). En el presente estudio se determinó que el 26 % (n=76) de las casas muestreadas presentaron infestación. Por lo que se puede observar que la tasa de infestación se mantuvo en el transcurso de 8 años. En estudios realizados por Monroy y su equipo (2022) se encontró que la comunidad San Antonio presentó una tasa de infestación del 29 % (n=75). En este estudio, se observó que la tasa de infestación se mantuvo ya que se determinó una tasa de infestación del 17.4 %, n=23 (Figura 7.2). Estos datos causan preocupación, ya que las infestaciones persisten a pesar de los diversos esfuerzos realizados en la comunidad. Reportes realizados en 2019 marcan a Guatemala como un área donde el principal vector ha sido eliminado, pero estos reportes hacen referencia al vector *Rhodnius prolixus* (OMS, 2019). Sin embargo, en estudios, como el presente, donde el enfoque es *T. dimidiata* se ha observado que la región no se encuentra libre del vector.

La comunidad de Buena Vista fue una de las comunidades que presentó el mayor porcentaje de infestación, siendo este del 37.5 % (Figura 7.2). En la comunidad Santa Barbara, se recolectaron alrededor de 9 triatominos (Figura 7.1). A pesar del bajo de número de triatominos, se puede observar que esta comunidad presentó una tasa considerable de infestación, la cual fue del 25 % (Figura 7.2). Estas tasas de infestación considerables pueden deberse a que la fumigación tiene una eficiencia baja, dando como resultado una eliminación incompleta de los insectos dentro de los hogares (Cahan *et al.* 2019). En estudios realizados por Cahan y su equipo (2019) observaron que luego de dos años las casas presentaban reinfestaciones y que la diversidad genética de los insectos se recuperaba. Esto puede deberse a que los triatominos pueden habitar tanto en ambientes domiciliarios como en ambientes selváticos (Zeledón *et al.* 1970). Aumentando así el intercambio de genes entre las

poblaciones. Esto genera preocupación, ya que los triatominos sobrevivientes pueden contener genes de resistencia a insecticidas, y al haber intercambio de genes y ambientes donde la primera línea de defensa es el rociamiento, se promueve la expresión de estos genes. En países como Argentina y Bolivia ya se encuentran casos de triatominos resistentes a ciertos insecticidas (Pessoa *et al.* 2015). Esto demuestra la necesidad de desarrollar métodos novedosos para el control del insecto.

En la comunidad El Comalito se observa una tasa de infestación del 20 % (Figura 7.2). Sin embargo, solamente fue posible muestrear 5 de las 24 casas que se pretendían. Esto debido a que la situación de COVID no permitió que el equipo muestreara esta comunidad. Por lo que los datos obtenidos de esta comunidad son meramente exploratorios y no se consideran representativos para este estudio. El Anonito fue otra comunidad que presentó una amplia cantidad de triatominos, ya que se recolectaron alrededor de 29 especímenes (Figura 7.1). No se obtuvo la tasa de infestación ya que solamente se muestreó una casa en esta comunidad, a petición del habitante de esta misma. Debido a que las muestras fueron recolectadas de una casa, es probable que, al haber un insecto infectado, este pueda transmitir el parásito al resto de la colonia. Ya que *T. cruzi* se transmite por medio de las heces de triatominos, por lo que los insectos fácilmente pudieron entrar en contacto con ellas (Santiago *et al.* 2018). Esto puede explicar el alto porcentaje de prevalencia de infección por *T. cruzi*, ya que este fue del 52 % (Cuadro 7.1). La mayor preocupación con esta casa es el alto número de triatominos recolectados, además del alto número de triatominos infectados con *T. cruzi*. El lugar donde se encontraron los triatominos era una bodega que se utilizaba como cocina. Por lo que los triatominos pudieron tener contacto con las personas. Además, es preocupante la amplia cantidad de triatominos encontrados en la comunidad, ya que estos pueden desplazarse a áreas circundantes (Cahan *et al.* 2019). Por lo que se recomendaría muestrear esta comunidad, al igual que se recomienda notificar a las personas de la comunidad para que puedan acudir a centros de salud y realizarse las pruebas para la enfermedad de Chagas.

En general, se obtuvo una prevalencia de infección con *T. cruzi* del 32 % (n=37) de 115 triatominos colectados. Sin embargo, es importante recalcar que en las comunidades El Anonito y El Comalito se muestrearon pocas casas. Estas comunidades presentaron los valores más altos en cuanto a prevalencia, ya que se obtuvieron valores del 52 % (n=29) y 100 % (n=3) respectivamente (Cuadro 7.1). Por lo que pueden estar inflando el valor general. Al remover estas comunidades se obtiene un porcentaje del 23 % (n=83). En un estudio realizado por Bustamante y su equipo (2014) se observó que 40 de 130 casas infestadas con triatominos (31 %) presentaba por lo menos un triatominos infectado. En este estudio se determinó que el 52.4 % (n=11) de las 21 casas infestadas presentaron por lo menos un triatominos infectado. Este dato debe interpretarse con cuidado, ya que el tamaño de muestra fue solamente de 11 casas infestadas. Es necesario contar con un número mayor de muestras para determinar si es un dato representativo de las comunidades muestreadas. Este dato se considera meramente exploratorio, pero puede brindar indicios de la prevalencia de *T. cruzi* en las comunidades. Esto es importante ya que la prevalencia de la enfermedad de Chagas en Guatemala se calcula que es del 1.23 %; comparado con otros países de Centroamérica, siendo uno de los países con la prevalencia más alta (Peterson *et al.* 2019).

En Centroamérica y México se ha encontrado que el DTU predominante es TcI, el cual se encuentra con mayor prevalencia en infecciones de humanos (Pennington *et al.* 2009). En Ecuador se ha reportado que las cepas TcI son capaces de causar infecciones más severas, además se ha encontrado este tipo de cepas en casos con cardiomiopatías chagástica crónica, reactivación y muerte (Calvopina *et al.* 2020). Esto causa preocupación, ya que en el presente estudio se determinó que el DTU TcI se encontraba presente en 33 muestras (Cuadro 7.2). Estos datos se han observado en estudios de regiones cercanas. Por ejemplo, en departamentos cercanos al área de muestreo, como Jalapa y Chiquimula fue posible detectar los DTUs TcI y TcII (Paiz, 2008). En México el DTU TcI predominó en triatominos recolectados en áreas domésticas (Joselín *et al.* 2021). En otros estudios se utilizan diversas técnicas para determinar el DTU de las muestras positivas. Al utilizar el gen mini-exón y llevar a cabo análisis bioinformáticos han obtenido información más amplia relacionado con el DTU, ya que de triatominos domiciliarios y peridomiciliares, fue posible determinar la presencia de DTUs TcI, TcII, TcV, TcVI (Murillo-Solano *et al.* 2021). En el presente estudio se utilizó

la técnica molecular multiplex-qPCR debido a que es una técnica simple y que permite una rápida clasificación de los DTUs (Curtis-Robles *et al.* 2018). Sin embargo, se ha sugerido que este método no es lo suficientemente efectivo como para detectar genes simultáneos, ya que al encontrarse uno en mayor concentración es probable que este mismo no permita la detección de otros DTUs que posiblemente se encuentren en las muestras (Pennington *et al.* 2009). Por lo que para futuros estudios se recomienda el uso de otros métodos moleculares, como el secuenciar el gen mini-exón, para obtener más información de las muestras. Además, se recomienda alertar a los habitantes de las comunidades muestreadas, ya que, al detectarse la enfermedad en etapas tempranas, aumenta la posibilidad de curar la enfermedad (WHO, 2021). Además, al tratarse de una cepa con un cuadro tan desfavorable, se recomienda tener especial cuidado y tratarse tempranamente.

Para poder obtener el modelo predictivo sobre la infectividad de *T. cruzi* en triatominos se evaluaron más de 15 variables. De ellas se realizaron varios modelos donde se obtuvo que el modelo más parsimonioso contenía las variables: Per_Dom, Elev_msnm, PA14, PB14, Int_Td_5 y Per_Td_5 (Cuadro 7.3). De estas variables, solamente se observó un efecto claro en la variable elevación (Elev_msnm), indicando que a mayor altitud a la que se encontraba la casa, es más probable que se observen triatominos infectados con *T. cruzi*. Este resultado puede verse influenciado por la comunidad El Anonito. Ya que la casa muestreada se encontraba a 1299 msnm (Figura 7.3), siendo esta la de mayor altitud en comparación con las otras comunidades. Al obviar esta comunidad es probable no encontrar el mismo resultado, ya que comunidades que se encontraban a una menor altitud como San Antonio, presentaba un mayor número de triatominos infectados en comparación con la comunidad Santa Barbara, la cual se encontraba a mayor altitud (Figura 7.3). Por lo que debemos ser precavidos al interpretar los resultados.

Es importante notar la presencia de los NAs en las variables, ya que estas se encontraron en las variables Per_Dom*, Int_Td_5**, Per_Td_5_Never**, Per_Td_5_Year** y PB14*** (Cuadro 7.4). Esto permitió que no fuera posible determinar si las variables presentaban un efecto claro o no sobre el modelo. Se cree que la presencia de estos NAs es debido a que en algunos modelos los efectos de ciertas variables pueden pasar desapercibidos debido al tamaño de muestra pequeño, y al ir aumentando el número de individuos los efectos se van revelando (Burnham, Anderson, 2003). Es probable que esto haya ocurrido, ya que en otros estudios realizados en Guatemala como el realizado por Bustamante *et al.* (2009), se ha observado que recopilan información de hasta 600 casas, aumentando así la cantidad de información disponible. Además, es importante denotar que los conjuntos con pocos datos permiten modelos sencillos con pocos parámetros, al aumentar el número de datos es posible añadirle cierta complejidad al modelo (Burnham, Anderson, 2003). Por lo que al aumentar el tamaño de muestra es posible que se encuentren más respuestas sobre el modelo. Es crucial recalcar que al obtener un modelo este se considera como una posible explicación a cierto fenómeno. Ya que es difícil encontrar una realidad completa, y más al intentar explicar modelos biológicos (Burnham, Anderson, 2003).

Otras variables que se incluyeron pero que no presentaron un efecto significativo dentro del modelo fueron el número de perros, gallinas y patos. El lugar donde permanecen y duermen los animales, así como la edad de la parte más antigua de las casas. En otros modelos se ha observado que categorizan a las casas. Es decir, se toma en cuenta los materiales de las paredes, piso y techo (Bustamante *et al.* 2009; Bustamante *et al.* 2014). En uno de los modelos realizados por Bustamante y su equipo en 2009, encontraron que en el departamento de Jutiapa se relacionaba la presencia de *T. dimidiata* con el nivel socioeconómico de las personas entrevistadas. Este nivel a su vez se relacionaba con las condiciones de la casa y las condiciones de higiene de los habitantes (Bustamante *et al.* 2009). En este estudio no fue posible incluir estas variables ya que no se tomó nota del tipo de material en todas las casas muestreadas. Por lo que para futuros estudios es recomendable que se consideren estas clasificaciones y determinar si estos factores continúan estando relacionados con la presencia de insectos en los hogares.

Los resultados encontrados demuestran infestaciones persistentes de *T. dimidiata* en las comunidades de Comapa. Es necesario tomar acciones para disminuir las tasas de infestación. En otros

estudios realizados en Guatemala, se ha observado que las tasas de infestación se reducen considerablemente al evitar las grietas en las casas (Castro-Arroyave *et al.* 2020). Además, al trabajar en conjunto con el Ministerio de Salud ha brindado resultados beneficiosos para los habitantes de estas regiones (Hashimoto *et al.* 2015). La prevalencia del 32% de *T. cruzi* en las muestras revela la necesidad de continuar con las acciones de vigilancia y prevención. Acciones como el acceso a salud, mejoramiento de vivienda y educación de las comunidades son claves para irrumpir el ciclo de transmisión de *T. cruzi* (Castro-Arroyave *et al.* 2020). Además, es necesario el desarrollo de estrategias innovadoras para el control de los insectos, con el fin de interrumpir el ciclo de transmisión de *T. cruzi*.

- Fue posible determinar la presencia de *T. cruzi* en muestras de *T. dimidiata* colectas en diferentes comunidades de Comapa, Jutiapa, Guatemala. Por medio de diversas técnicas moleculares como qPCR y multiplex-qPCR.
- Se realizó la caracterización genética de 33 muestras positivas para *T. cruzi*. Donde se determinó que estas corresponden al DTU TcI. No fue posible caracterizar genéticamente 5 muestras.
- Se determinó una prevalencia de infección de *T. cruzi* del 32% (n=115).
- Se determinó que, de 76 casas muestreadas en diferentes comunidades de Comapa, Jutiapa, Guatemala el 26% de ellas presentó infestación del insecto *T. dimidiata*. Siendo Buena Vista la comunidad donde se encontró una mayor cantidad de insectos intradomiciliares.
- Se encontró un modelo predictivo sobre la infectividad de *T. cruzi*, en el cual se observó que a mayor altitud a la que se encontraba la casa, es más probable que se observen triatomíneos infectados con *T. cruzi*. Para ello se tomaron las respuestas de las encuestas contenidas en la base de datos.
- Los resultados del presente estudio indican infestaciones persistentes de *T. dimidiata* en las comunidades de Comapa. Por lo que es necesario continuar con los esfuerzos de monitoreo y control para interrumpir el ciclo de transmisión de *T. cruzi*, Al mismo tiempo que se deben desarrollar estrategias novedosas para estudiar y controlar la enfermedad en Guatemala.

CAPÍTULO 10

Recomendaciones

- Los datos del presente estudio se consideran meramente exploratorios y no representativos de las comunidades muestreadas. Para futuros estudios se recomienda aumentar el tamaño de muestra de comunidades y casas a muestrear.
- Se recomienda el uso de otros métodos moleculares, como el secuenciar el gen mini-exón, para obtener más información de la caracterización genética de las muestras.
- Es importante incluir dentro de las encuestas la determinación de materiales de los hogares, especialmente de paredes, techo y piso.

- Acevedo, F., Godoy, E., & Schofield, C. J. (2000). *Comparison of intervention strategies for control of Triatoma dimidiata in Nicaragua*. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, 95, 867-871. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762000000600022>
- Balasubramanian, S., Curtis-Robles, R., Chirra, B., Auckland, L. D., Mai, A., Bocanegra-Garcia, V., Clark, P., Clark, W., Cottingham, M., Fleurie, G., Johnson, C. D., Metz, R. P., Wang, S., Hathaway, N. J., Bailey, J. A., Hamer, G. L., & Hamer, S. A. (2022). *Characterization of triatomine bloodmeal sources using direct Sanger sequencing and amplicon deep sequencing methods*. Scientific Reports, 12(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14208-8>
- Bern, C., Montgomery, S. P., Herwaldt, B. L., Rassi, A., Marin-Neto, J. A., Dantas, R. O., Maguire, J. H., Acquatella, H., Morillo, C., Kirchhoff, L. V., Gilman, R. H., Reyes, P. A., Salvatella, R., & Moore, A. C. (2007). *Evaluation and Treatment of Chagas Disease in the United States A Systematic Review*. JAMA, 298(18), 2171-2181. <https://doi.org/10.1001/jama.298.18.2171>
- Botto-Mahan, C., Bacigalupo, A., Correa, J. P., Fontúrbel, F. E., Cattán, P. E., & Solari, A. (2020). *Prevalence, infected density or individual probability of infection? Assessing vector infection risk in the wild transmission of Chagas disease*. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 287(1922), 20193018. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.3018>
- Bowman, N. M., Balasubramanian, S., Gilman, R. H., Parobek, C., Calderon, M., Waltmann, A., Messenger, L. A., Sanchez, L., Bern, C., Juliano, J. J., & Working Group on Chagas Disease in Bolivia and Peru. (2022). *Deep Sequencing to Detect Diversity of Trypanosoma cruzi Infection in Patients Coinfected With Human Immunodeficiency Virus and Chagas Disease*. The Journal of Infectious Diseases, 225(2), 243-247. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiab350>
- Brenière, S. F., Waleckx, E., & Barnabé, C. (2016). *Over six thousand Trypanosoma cruzi strains classified into discrete typing units (DTUs): attempt at an inventory*. PLoS neglected tropical diseases, 10(8), e0004792. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004792>
- Burnham, K. P., & Anderson, D. R. (2003). *Model Selection and Multimodel Inference: A Practical Information-Theoretic Approach*. Springer Science & Business Media.
- Bustamante, D. M., Monroy, C., Pineda, S., Rodas, A., Castro, X., Ayala, V., Quiñones, J., Mo-guel, B., & Trampe, R. (2009). *Risk factors for intradomestic infestation by the Chagas*

disease vector *Triatoma dimidiata* in Jutiapa, Guatemala. *Cadernos de Saúde Pública*, 25, S83–S92. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2009001300008>

- Bustamante, D. M., Urioste-Stone, S. M. D., Juárez, J. G., & Pennington, P. M. (2014). *Ecological, Social and Biological Risk Factors for Continued Trypanosoma cruzi Transmission by Triatoma dimidiata in Guatemala*. *PLOS ONE*, 9(8), e104599. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104599>
- Cahan, S. H., Orantes, L. C., Wallin, K. F., Hanley, J. P., Rizzo, D. M., Stevens, L., Dorn, P. L., Rodas, A., & Monroy, C. (2019). *Residual survival and local dispersal drive reinfestation by Triatoma dimidiata following insecticide application in Guatemala*. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 74, 104000. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.104000>
- 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.
- Cantillo-Barraza, O., Medina, M., Zuluaga, S., Valverde, C., Motta, C., Ladino, A., Osorio, M. I., Jaimes-Dueñez, J., & Triana-Chávez, O. (2020). *Eco-epidemiological study reveals the importance of Triatoma dimidiata in the Trypanosoma cruzi transmission, in a municipality certified without transmission by Rhodnius prolixus in Colombia*. *Acta Tropica*, 209, 105550. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105550>
- Caranci, A. T., Grieco, J. P., Achee, N. L., Hoel, D. F., Bautista, K., King, R., Stewart, V. A., Murphy, J., Masuoka, P., & 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. <https://doi.org/10.1093/jme/tjab227>
- Carmona-Galindo, V. D., Recinos, M. F. M., Hidalgo, S. A. G., Paredes, G. R., Vaquerano, E. E. P., Magaña, A. L. R., & Ayala, A. K. C. (2020). *Morphological variability and ecological characterization of the Chagas disease vector Triatoma dimidiata (Hemiptera: Reduviidae) in El Salvador*. *Acta tropica*, 205, 105392.
- Carrada-Bravo, T. (2004). *Trypanosoma cruzi. Natural history and diagnosis of Chagas disease*. *Rev. Mex. Patol. Clin*, 51(4), 205-219.
- Castro-Arroyave, D., Monroy, M. C., & Irurita, M. I. (2020). *Integrated vector control of Chagas disease in Guatemala: A case of social innovation in health*. *Infectious Diseases of Poverty*, 9, 25. <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00639-w>
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2007). *Blood donor screening for chagas disease—United States, 2006-2007*. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 56(7), 141–143.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (6 de marzo de 2019). *Parasites - American Trypanosomiasis (also known as Chagas Disease)*. Recuperado de: Centers for Disease Control and Prevention (CDC), el 8 de abril de 2023. <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>
- Cevallos, A., Hernández, R., (13 de mayo, 2011). *Trypanosoma cruzi y la enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana)*. Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado el 27 de marzo de 2023 de: <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap15/>
- Chimal, J., & Pineda, C. (2013). Empleo de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la detección de la infección por Trypanosoma cruzi en individuos clínicamente sanos.

[Trabajo de Graduación], Universidad Autónoma Del Estado De Morelos
<https://doi.org/10.13140/RG.2.2.27165.82401>

- Coura, J. R., & Castro, S. L. de. (2002). *A Critical Review on Chagas Disease Chemotherapy*. Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz, 97, 3-24.
<https://doi.org/10.1590/S0074-02762002000100001>
- Crocco, L., Nattero, J., López, A., Cardozo, M., Soria, C., Ortiz, V., & Rodriguez, C. S. (2019). *Factors associated with the presence of triatomines in rural areas of south Argentine Chaco*. Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 52, e. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0357-2018>
- Cuna, W. R., Rodriguez, C., Torrico, F., Afchain, D., Loyens, M., & Desjeux, P. (1989). *Evaluation of a Competitive Antibody Enzyme Immunoassay for Specific Diagnosis of Chagas' Disease*. The Journal of Parasitology, 75(3), 357-359. <https://doi.org/10.2307/3282588>
- Cura, C. I., Duffy, T., Lucero, R. H., Bisio, M., Péneau, J., Jimenez-Coello, M., Calabuig, E., Gimenez, M. J., Ayala, E. V., Kjos, S. A., Santalla, J., Mahaney, S. M., Cayo, N. M., Nagel, C., Barcán, L., Machaca, E. S. M., Viana, K. Y. A., Brutus, L., Ocampo, S. B., ... Schijman, A. G. (2015). *Multiplex Real-Time PCR Assay Using TaqMan Probes for the Identification of Trypanosoma cruzi DTUs in Biological and Clinical Samples*. PLOS Neglected Tropical Diseases, 9(5), e0003765. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003765>
- Curtis-Robles, R., Auckland, L. D., Snowden, K. F., Hamer, G. L., & Hamer, S. A. (2018). *Analysis of over 1500 triatomine vectors from across the US, predominantly Texas, for Trypanosoma cruzi infection and discrete typing units*. Infection, Genetics and Evolution, 58, 171-180. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.12.016>
- Dorn, P. L., Melgar, S., Rouzier, V., Gutierrez, A., Combe, C., Rosales, R., ... & Monroy, C. M. (2003). *The Chagas vector, Triatoma dimidiata (Hemiptera: Reduviidae), is panmictic within and among adjacent villages in Guatemala*. Journal of medical entomology, 40(4), 436-440. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-40.4.436>
- Dorn, P. L., Monroy, C., & Curtis, A. (2007). *Triatoma dimidiata (Latreille, 1811): A review of its diversity across its geographic range and the relationship among populations*. Infection, Genetics and Evolution, 7(2), 343-352. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2006.10.001>
- Duffy, T., Bisio, M., Altcheh, J., Burgos, J. M., Diez, M., Levin, M. J., & Schijman, A. G. (2009). *Accurate real-time PCR strategy for monitoring bloodstream parasitic loads in Chagas disease patients*. PLoS neglected tropical diseases, 3(4), e419.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000419>
- Duffy, T., Cura, C. I., Ramirez, J. C., Abate, T., Cayo, N. M., Parrado, R., Bello, Z. D., Velazquez, E., Muñoz-Calderon, A., Juiz, N. A., Basile, J., Garcia, L., Riarte, A., Nasser, J. R., Ocampo, S. B., Yadon, Z. E., Torrico, F., Noya, B. A. de, Ribeiro, I., & Schijman, A. G. (2013). *Analytical Performance of a Multiplex Real-Time PCR Assay Using TaqMan Probes for Quantification of Trypanosoma cruzi Satellite DNA in Blood Samples*. PLOS Neglected Tropical Diseases, 7(1), e2000. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002000>
- Dumonteil, E., & Gourbiere, S. (2004). *Predicting Triatoma dimidiata abundance and infection rate: a risk map for natural transmission of Chagas disease in the Yucatan peninsula of Mexico*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 70(5), 514-519. DOI:10.4269/ajtmh.2004.70.514
- Dumonteil, E., Rodriguez-Félix, E., Ramirez-Sierra, M. J., Rabinovich, J. E., Barrera-Pérez, M., Baños-Lopez, O., Ruiz-Piña, H., Gourbière, S., & Menu, F. (2002). *Geographic distribution of Triatoma dimidiata and transmission dynamics of Trypanosoma cruzi in the Yucatan*

peninsula of Mexico. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 67(2), 176-183. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2002.67.176>

- Fuentes-Vicente, J. A. D., Vidal-López, D. G., Gutiérrez-Jiménez, J., & Schlie-Guzmán, M. A. (2016). Tasa de infección y tiempo de defecación de los estadios ninfales de *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) después de la infección experimental con *Trypanosoma cruzi*. *Revista biomédica*, 27(3), 111-117. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v27i3.539>
- Gorbach, S. L., Bartlett, J. G., & Blacklow, N. R. (2004). *Infectious Diseases*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Hashimoto K, Zúñiga C, Romero E, Morales Z, Maguire JH (2015) *Determinants of Health Service Responsiveness in Community-Based Vector Surveillance for Chagas Disease in Guatemala, El Salvador, and Honduras*. *PLoS Negl Trop Dis* 9(8): e0003974. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003974>
- Hashimoto, K., & Schofield, C. J. (2012). *Elimination of Rhodnius prolixus in central America*. *Parasites & vectors*, 5, 1-10. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-45>
- Heukelbach, J., de Sousa, A. S., & Ramos, A. N. (2021). *New Contributions to the Elimination of Chagas Disease as a Public Health Problem: Towards the Sustainable Development Goals by 2030*. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 6(1), 23. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed6010023>
- Joselín, D.-V., Ignacio, M., Ángel, R.-M., Gabriel, G.-G., Rodrigo Isaias, L.-V., Víctor, S.-C., Jorge, F.-N., Jose, Á.-C., & Bertha, E. (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), 1042–1049. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.20-1574>
- Juarez, J. G., Pennington, P. M., Bryan, J. P., Klein, R. E., Beard, C. B., Berganza, E., Rizzo, N., & Cordon-Rosales, C. (2018). *A decade of vector control activities: Progress and limitations of Chagas disease prevention in a region of Guatemala with persistent Triatoma dimidiata infestation*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 12(11), e0006896. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006896>
- Jurberg, J., & Galvão, C. (2006). *Biology, ecology and systematics of Triatominae (Heteroptera, Reduviidae), vectors of Chagas disease, and implications for human health*. *Denisia*, 50, 1096-1116.
- Lent, H., & Wygodzinsky, P. W. (1979). *Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease*. *Bulletin of the AMNH*; v. 163, article 3. <https://digitallibrary.amnh.org/handle/2246/1282>
- Llano, M., Pavía, P., Flórez, A. C., Cuéllar, A., González, J. M., & Puerta, C. (2014). Evaluación preliminar de la prueba comercial Chagas (*Trypanosoma cruzi*) IgG-ELISA ® en individuos colombianos. *Biomédica*, 34(2), 228-236. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.1580>
- Lu, Q., Sun, Y., Ares, I., Anadón, A., Martínez, M., Martínez-Larrañaga, M.-R., Yuan, Z., Wang, X., & Martínez, M.-A. (2019). *Deltamethrin toxicity: A review of oxidative stress and metabolism*. *Environmental Research*, 170, 260-281. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.12.045>
- Lumen Learning Boundless (29 de octubre 2022). 7. 26B: Células de Seguimiento con Luz. LibreTexts Español; Libretxts. Recuperado el 18 de abril de 2023, de: https://espanol.libretexts.org/Biologia/Microbiologia/C3%ADa/Libro%3A_Microbiologia

%C3%ADa_(Sin_1%C3%ADmites)/7%3A_Gen%C3%A9tica_Microbiana/7.26%3A_T%C3%A9nicas_de_Fisiolog%C3%ADa_Celular/7._26B%3A_C%C3%A9lulas_de_Seguimiento_con_Luz

- Marin-Neto, J. A., Cunha-Neto, E., Maciel, B. C., & Simões, M. V. (2007). *Pathogenesis of chronic Chagas heart disease*. *Circulation*, 115(9), 1109-1123. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.624296>
- Martín-Escolano, J., Marín, C., Rosales, M. J., Tsaousis, A. D., Medina-Carmona, E., & Martín-Escolano, R. (2022). *An Updated View of the Trypanosoma cruzi Life Cycle: Intervention Points for an Effective Treatment*. *ACS Infectious Diseases*, 8(6), 1107-1115. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.2c00123>
- May-Concha, I. J., Guerenstein, P. G., Malo, E. A., Catalá, S., & Rojas, J. C. (2018). *Electroantennogram responses of the Triatoma dimidiata complex to volatiles produced by its exocrine glands*. *Acta tropica*, 185, 336-343. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.06.018>
- 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. <https://doi.org/10.1586/14787210.2015.1056158>
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (2022). Situación epidemiológica, de Chagas a la SE-30, Guatemala, años 2019-2022*. Recuperado de: <http://epidemiologia.mspas.gob.gt/files/2022/salas-situacionales/chagas/chagas-sem-30-2022.pdf>
- Möller, D. (2016). Dinámica de alimentación de Triatoma dimidiata, vector de la enfermedad de Chagas, en una región de Guatemala con infestación persistente (Comapa, Jutiapa). [Trabajo de Graduación]. Universidad del Valle de Guatemala.
- Monroy, C., Bustamante, D. M., Pineda, S., Rodas, A., Castro, X., Ayala, V., Quiñones, J., & Moguel, B. (2009). *House improvements and community participation in the control of Triatoma dimidiata re-infestation in Jutiapa, Guatemala*. *Cadernos de Saúde Pública*, 25(suppl 1), S168-S178. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2009001300016>
- Monroy, C., Castro, X., Bustamante, D. M., Pineda, S. S., Rodas, A., Moguel, B., Ayala, V., & Quiñonez, J. (2012). *An Ecosystem Approach for the Prevention of Chagas Disease in Rural Guatemala*. In D. F. Charron (Ed.), *Ecohealth Research in Practice* (pp. 153-162). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0517-7_14
- Monroy, M. C., Penados, D., Pineda, J., Ruiz, E. L., Agreda, E. O., Alcántara, B., Rodas, A., Lange, K., Weinberg, D., Bazzani, R., Marchiol, A., Herazo, R., Agrelo, R. S., Abril, M., & Chuit, R. (2022). *A multidisciplinary, collaborative, inter-agency and comprehensive approach for the control of Chagas Disease as a public health problem in Guatemala*. *Acta Tropica*, 225, 106157. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106157>
- Murillo-Solano, C., Ramos-Ligonio, A., López-Monteon, 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. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.105050>
- Nakagawa, J., Hashimoto, K., Cordon-Rosales, C., Abraham Juarez, J., Trampe, R., & Marroquin Marroquin, L. (2003). *The impact of vector control on Triatoma dimidiata in the Guatemalan department of Jutiapa*. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 97(3), 288-297. <https://doi.org/10.1179/000349803235001895>
- Nakagawa, J., Kojima, M., Zúñiga, C., Ota, K., & Serpas, M. (2006). Modalidades de descen-

tralización y control de la enfermedad de Chagas: análisis comparativo entre Guatemala, Honduras y El Salvador. DESCENTRALIZACIÓN Y GESTIÓN DEL CONTROL DE LAS ENFERMEDADES TRANSMISIBLES EN AMÉRICA LATINA DESCENTRALIZAÇÃO E GESTÃO DO CONTROLE, 231. ISBN 92 75 07397 X.

- Nattero, J., Dujardin, J. P., del Pilar Fernández, M., & Gürtler, R. E. (2015). *Host-feeding sources and habitats jointly affect wing developmental stability depending on sex in the major Chagas disease vector Triatoma infestans*. *Infection, Genetics and Evolution*, 36, 539-546. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2015.08.032>
- OMS (2019). Mapa. Transmisión vectorial de Chagas; 2019. Recuperado el 26 de octubre de 2023, de: <https://www.paho.org/es/documentos/mapa-transmision-vectorial-chagas-2019>
- Orantes, L. , Monroy, C., Dorn, P. L., Stevens, L., Rizzo, D. M., Morrissey, L., Hanley, J. P., Rodas, A. G., Richards, B., Wallin, K. F., & Cahan, S. H. (2018). *Uncovering vector, parasite, blood meal and microbiome patterns from mixed-DNA specimens of the Chagas disease vector Triatoma dimidiata*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 12(10), e0006730. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006730>
- Pacheco-Tucuch, F. S., Ramirez-Sierra, M. J., Gourbière, S., & Dumonteil, E. (2012). *Public street lights increase house infestation by the Chagas disease vector Triatoma dimidiata*. *PloS one*, 7(4), e36207. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036207>
- Paiz, C. (2008). Caracterización genética de los linajes de Trypanosoma cruzi encontrados en heces de los vectores Triatoma dimidiata y Rhodnius prolixus utilizando el gen de mini exón. [Trabajo de Graduación]. Universidad del Valle de Guatemala.
- Palacios, X., Belli, A., & Espino, A. M. (2000). Detección de anticuerpos contra Trypanosoma cruzi en Somoto, Nicaragua, mediante ELISA indirecto e IFI en muestras de sangre en papel de filtro. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 8(6), 411-417. <https://doi.org/10.1590/S1020-49892000001100006>
- Pech-May, A., Mazariegos-Hidalgo, C. J., Izeta-Alberdi, A., López-Cancino, S. A., Tun-Ku, E., Cruz-Félix, K. D. la, Ibarra-Cerdeña, C. N., Ittig, R. E. G., & 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. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007044>
- Pennington, P. M., Paiz, C., Grajeda, L. M., & Córdón-Rosales, C. (2009). *Short Report: Concurrent Detection of Trypanosoma cruzi Lineages I and II in Domestic Triatoma dimidiata from Guatemala*. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 80(2), 239-241.
- Pereira, Á., & Pérez, M. (2003). Tripanosomosis. *Enfermedad de Chagas y enfermedad del sueño*. *Offarm*, 22(2), 104-111.
- Pereira, F. M., Penados, D., Dorn, P. L., Alcántara, B., & Monroy, M. C. (2022). *The long-term impact of an Ecohealth intervention: Entomological data suggest the interruption of Chagas disease transmission in southeastern Guatemala*. *Acta Tropica*, 235, 106655. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106655>
- Pessoa, G. C. D., Vinãs, P. A., Rosa, A. C. L., & Diotaiuti, L. (2015). *History of insecticide resistance of Triatominae vectors*. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 48, 380-389. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0081-2015>
- Peterson, J.K., Yoshioka, K., Hashimoto, K. et al. *Chagas Disease Epidemiology in Central America: an Update*. *Curr Trop Med Rep* 6, 92-105 (2019). <https://doi.org/10.1007/s40475->

- QGIS Development Team (2022). *QGIS Geographic Information System: version 3.28.3-Firenze*. Open Source Geospatial Foundation Project.
- Quirós-Gómez, O., Jaramillo-O, N., Angulo, V., & Parra-Henao, G. (2017). *Triatoma dimidiata in Colombia. Distribution, ecology and its epidemiological importance*. *Biomédica*, 37(2). <https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i2.2893>
- Rassi, A., & Marin-Neto, J. A. (2010). *Chagas disease*. *The Lancet*, 375(9723), 1388–1402. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60061-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60061-X)
- Reyes, M., & Angulo, V. M. (2009). Ciclo de vida de *Triatoma dimidiata* Latreille, 1811 (Hemiptera, Reduviidae) en condiciones de laboratorio: producción de ninfas para ensayos biológicos. *Biomédica*, 29(1), 119-126.
- Rueda, K., Trujillo, J. E., Carranza, J. C., & Vallejo, G. A. (2014). Transmisión oral de *Trypanosoma cruzi*: Una nueva situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en Colombia y otros países suramericanos. *Biomédica*, 34(4), 631-641. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i4.2204>
- Santiago, P. B., de Araújo, C. N., Charneau, S., Bastos, I. M. D., Assumpção, T. C. F., Queiroz, R. M. L., Praça, Y. R., Cordeiro, T. de M., Garcia, C. H. S., da Silva, I. G., Raiol, T., Motta, F. N., de Araújo Oliveira, J. V., de Sousa, M. V., Ribeiro, J. M. C., & de Santana, J. M. (2018). *Exploring the molecular complexity of Triatoma dimidiata sialome*. *Journal of Proteomics*, 174, 47–60. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2017.12.016>
- Schijman, A. G., Bisio, M., Orellana, L., Sued, M., Duffy, T., Jaramillo, A. M. M., Cura, C., Auter, F., Veron, V., Qvarnstrom, Y., Deborggraeve, S., Hajar, G., Zulantay, I., Lucero, R. H., Velazquez, E., Tellez, T., Leon, Z. S., Galvão, L., Nolder, D., Ladzins, J. (2011). *International Study to Evaluate PCR Methods for Detection of Trypanosoma cruzi DNA in Blood Samples from Chagas Disease Patients*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 5(1), e931. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000931>
- Tabaru, Y., Monroy, C., Rodas, A., Mejia, M., & Rosales, R. (1999). *The geographical distribution of vectors of Chagas' disease and populations at risk of infection in Guatemala*. *Medical entomology and zoology*, 50(1), 9-17. DOI: 10.7601/mez.50.9_1
- Viotti, R., Vigliano, C., Lococo, B., Bertocchi, G., Petti, M., Alvarez, M. G., Postan, M., & Armenti, A. (2006). *Long-term cardiac outcomes of treating chronic Chagas disease with benznidazole versus no treatment: a nonrandomized trial*. *Annals of internal medicine*, 144(10), 724-734. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-144-10-200605160-00006>
- World Health Organization. (1 de abril de 2021). La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). Who.int. Recuperado el 27 de marzo de 2023 de: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))
- Zeledón, R., Guardia, V. M., Zúñiga, A., & Swartzwelder, J. C. (1970). *Biology and ethology of Triatoma dimidiata (Latreille, 1811): I. Life cycle, amount of blood ingested, resistance to starvation, and size of adults*. *Journal of medical entomology*, 7(3), 313-319.
- Zeledón, R., Solano, G., Zúñiga, A., & Swartzwelder, J. C. (1973). *Biology and ethology of Triatoma dimidiata (Latreille, 1811). III. Habitat and blood sources*. *Journal of medical entomology*, 10(4), 363-370.
- Zingales, B., Andrade, S., Briones, M., Campbell, D., Chiari, E., Fernandes, O., Guhl, F., Lages-Silva, E., Macedo, A., Machado, C., Miles, M., Romanha, A., Sturm, N., Tibayrenc, M., & Schijman, A. (2009). *A new consensus for Trypanosoma cruzi intraspecific nomenclature*:

Second revision meeting recommends TcI to TcVI. Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz, 104(7), 1051-1054. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762009000700021>

12.1. Comité de ética



Guatemala, June 3, 2022

No. de protocolo 270-05-2022

From: Research Ethics Committee
Center for Health Studies (CHS)

To: Dr. Guillermo Juarez, Ph.D.
Principal Investigator CES-UVG

Subject: Evaluation of protocol: "Inmersión de estudiantes en el manejo de enfermedades vectoriales con una perspectiva de One-health"

The above protocol was reviewed by the Research Ethics Committee of the CHS and in accordance with the guidelines of this committee (Operational Guide), it was classified as "Research not involving human subjects", since no data related to people or individual identifiable information will be collected or analyzed.

The revised version of the protocol is version 1.2 of May 31, 2022

Subsequently, it is determined that no further revisions of this protocol are needed, unless some amendment is made to the original protocol.

Licda. Celia Cordón de Rosales
President
Research Ethics Committee
Center for Health Studies
Universidad del Valle de Guatemala



1/1

Figura 12.1: Aprobación del comité de ética para el estudio.

12.2. Preguntas de las encuestas

Se obtuvieron los siguientes datos como control interno:

- Comunidad
- ID Casa
- Completado por
- Fecha

Se realizaron las siguientes preguntas:

- ¿Cuántos años tiene la parte más vieja de la casa?
- Número de personas que duermen en su casa: separado por niños y adultos.
- ¿Ha sido su hogar parte de algún proyecto sobre la Chinche picuda o la enfermedad de Chagas?
¿O algún proyecto de control?
 - Sí/No
 - Cuales.
- ¿Usted o su familia usa mosquiteros?
- ¿Cuándo fue la última vez que vio alguno de estos vectores?
 - Vectores:
 - Mosquitos
 - Triatominos
 - Pulgas
 - Garrapatas
 - Lugares:
 - Intradomiciliar
 - Peridomiciliar
 - Selvático
 - Tiempo:
 - Nunca
 - En el último mes
 - En el último año
- ¿Tiene usted animales domésticos?
- ¿Cuántos tiene?
 - Perros
 - Gallinas
 - Patos
 - Otros
- ¿En dónde pasan sus perros el tiempo?
 - En la casa

- En el patio
- Comunidad
- Me acompaña al trabajo
- ¿Dónde duermen sus animales en la noche?
 - Animales:
 - Perros
 - Gallinas
 - Otros
 - Lugar:
 - Intradomiciliar
 - Peridomiciliar
- Pensando en sus gallinas ponedoras
 - ¿En dónde empollan sus gallinas?
 - Dormitorio
 - Cocina
 - Otros cuartos
 - Otro:
 - ¿Mes del año para incubación de huevos (seleccionar una más)?
 - Opciones de Enero a Diciembre
- ¿Usted que cree tiene un impacto en la salud de sus animales?
 - Perros
 - Gallinas
 - Otros
- ¿Trata usted a sus animales con algún producto que proteja la salud de ellos?
 - Animales:
 - Perros
 - Gallinas
 - Otros
 - Sí/No
 - ¿Qué productos?
- ¿Ha visto animales salvajes en el último mes?
 - Animales
 - Tacuazines
 - Ratas
 - Armadillos
 - Coyotes
 - Ratones
 - Mapaches
 - Zorrillos
 - Zorros
 - Other:

- Lugar:
 - Intradomiciliar
 - Peridomiciliar
 - Selvático
- ¿Realiza usted actividades en su casa para evitar o eliminar insectos?
 - ¿Usa pesticidas (incluirl insecticidas)?
 - ¿Usa repelentes?
 - Otras actividades
- ¿Realiza usted actividades en su propiedad para controlar ratones o ratas?
- ¿Realiza usted actividades para controlar plagas de granos en su propiedad?
- Acepta que se tome muestra de paredes y piso del hogar
 - Este procedimiento consiste en realizar un hisopado de paredes y piso del cuarto, cocina, y otras habitaciones en el intradomicilio. El investigador utilizará un hisopo de poliéster que será empleado para detector ADN de triatominos, *Trypanosoma cruzi*, y/o otros vectores/parásitos.

12.3. Información adicional sobre verificación y análisis de base de datos.

Se presenta información contenida en el resumen de todas las muestras:

- “%D_Com”: Porcentaje de perros.
- “%D_Ticks”: Porcentaje de perros con garrapatas.
- “%D_Fleas”: Porcentaje de perros con pulgas.
- “%D_Blood”: Porcentaje de perros a los cuales se les tomaron muestras de sangre.
- “%D_Swab”: Porcentaje de perros muestreados para hisopado nasal/bocal.
- “%Infestation”: Índice de infestación por comunidad. Este índice hace mención al porcentaje de viviendas donde se recolectaron triatominos (Hernández *et al.* 2010). Se calculó con la siguiente fórmula:

$$\%Infestacion = \frac{T_{Com}}{Houses} \times 100\% \quad (12.1)$$

- Donde:
 - “Houses”: es la cantidad de casas muestreadas por comunidad
 - “T_Com”: Número de casas con triatominos por comunidad.
- “%Colonization_P”: Índice de colonización peridomiciliar por comunidad. Este índice hace mención al porcentaje de viviendas donde se recolectaron triatominos juveniles, como ninfas y/o huevos (Hernández *et al.* 2010). Se calculó con la siguiente fórmula:

$$\%Colonization_P = \frac{TNinfs_Per}{Houses} \times 100\% \quad (12.2)$$

- Donde:

- “*Houses*”: es la cantidad de casas muestreadas por comunidad
 - “*TNinfs_Per*”: Número de casas con ninfas encontradas peridomiciliar por comunidad.
- “*%Colonization_I*”: Índice de colonización intradomiciliar por comunidad. Se calculó con la siguiente fórmula:

$$\%Colonization_I = \frac{TNinfs_Intra}{Houses} \times 100\% \quad (12.3)$$

- Donde:
- “*Houses*”: es la cantidad de casas muestreadas por comunidad
 - “*TNinfs_Intra*”: Numero de casas con ninfas encontradas intradomiciliar por comunidad.
- “*%W_Swab*”: Porcentaje de muestras de hisopados de pared realizados por comunidad.
- “*%F_Swab*”: Porcentaje de muestras de hisopados de piso realizados por comunidad.
- “*%_M_Com*”: Porcentaje de casas con mosquitos.
- “*%_M_Aedes*”: Porcentaje de casas con mosquitos *Aedes aegypti*.
- “*%_M_Culex*”: Porcentaje de casas con mosquitos *Culex spp.*
- “*%M_UnI*”: Porcentaje de casas con mosquitos no identificados por especie.

12.4. Disección de muestras

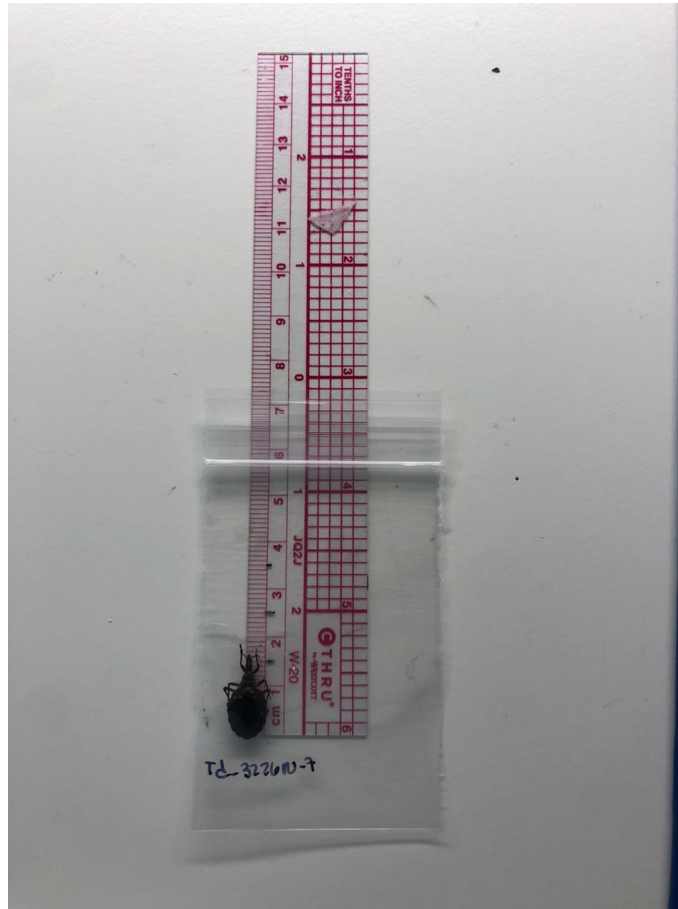


Figura 12.2: Mediciones del largo del cuerpo de los triatominos.



Figura 12.3: Preparación de materiales para la disección en campana de bioseguridad B2.

12.5. Mapas de los pozos utilizados para las reacciones de qPCR.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	P001_CC1	P002_CC1	P004_CC1	H2O neg	B06_CC1	B15_CC1	B16_CC1	Extr230525				
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H	NA	NA	NA	NA	NA	H2O neg	Silvio 1:10000 (POS control)					

Figura 12.4: Mapa de los pozos utilizados en la reacción del 230531.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	TD-3236-1	TD-3153-1	TD-3223-1	TD-3231-1	B01_CC1	H2O neg	TD-3236-2	TD-3153-2	TD-3223-2	TD-3231-2	B02_CC1	H2O neg
B												
C	TD-3236-3	TD-3153-3	TD-3223-3	TD-3231-3	B03_CC1	H2O neg	TD-3236-4	TD-3153-4	TD-3223-4	TD-3231-4	B04_CC1	H2O neg
D												
E	TD-3236-5	TD-3153-5	TD-3223-5	TD-3231-5	B05_CC1	H2O neg	TD-3236-6	TD-3153-6	TD-3223-6	TD-3231-6		H2O neg
F												
G						H2O neg		Extrneg230602 A	Extrneg230602 B	Silvio 1:10000 (POS control)		
H	TD-3236-7	TD-3153-7	TD-3223-7	TD-3002-1			Extrneg230601					

Figura 12.5: Mapa de los pozos utilizados en la reacción del 230605.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	B04_CC1	B07_CC1	TD-3232-1	TD-3153-8	TD-3223-8	H2O neg	TD-3005-1	B08_CC1	TD-3232-2	TD-3153-9	TD-3226N-1	H2O neg
B												
C	TD-3017-1	CC1_B09	TD-3232-3	TD-3153-10	TD-3226N-2	H2O neg	TD-3019-1	CC1_B10	TD-3232-4	TD-3153-11	TD-3226N-3	H2O neg
D												
E	TD-3230-1	CC1_B11	TD-3232-5			H2O neg	Extrneg230605 A		Extrneg230605 B			
F												
G	Silvio 1:10000 (POS control)											
H												

Figura 12.6: Mapa de los pozos utilizados en la reacción del 230606.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	TD-3153-12	TD-3226N-4	TD-3224-1	CC1_B12	TD-3232-6	H2O neg	TD-3153-13	TD-3226N-5	TD-3227N-1	CC1_B13	TD-3232-7	H2O neg
B												
C	TD-3153-14	TD-3226N-6	TD-3160-1	CC1_B14	TD-3232-8	H2O neg	TD-3153-15	TD-3226N-7	TD-3168-1	TD-3232-9	TD-3153-16	H2O neg
D												
E			TD-3226N-8	TD-3168-2		H2O neg	Extrneg 230606A		Extrneg 230606 B			
F												
G	Silvio 1:10000 (POS control)											
H												

Figura 12.7: Mapa de los pozos utilizados en la reacción del 230607.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	TD-3232-10	TD-3153-17	TD-3226N-9	TD-3156-1	TD-3232-11	H2O neg	TD-3237N-1	TD-3022-1	TD-3332-1	PO01_CC1_2	TD-3232-12	H2O neg
B												
C	TD-3237N-2	TD-3022-2	TD-3332-2	PO01_CC1_3	TD-3232-13	H2O neg	TD-3237N-3	TD-3024-1	TD-3332-3	PO01_CC1_4	TD-3232-14	H2O neg
D												
E	TD-3237N-4	TD-3024-2		Silvio 1:10000 (POS control)		H2O neg	Extrneg 230608 A	Extrneg 230608 B				
F												
G												
H												

Figura 12.8: Mapa de los pozos utilizados en la reacción del 230608.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	TD22Comapa	PO01_CC1_5	TD-3232-15	TD-3237N-5	TD-3024-3	H2O neg	TD22Comapa	PO01_CC1_6	PO01_CC1_7	PO02_CC1_2	PO02_CC1_3	H2O neg
B												
C	PO02_CC1_4	TD-3232-10	TD-3153-17	TD-3226N-9	TD-3156-1	H2O neg	TD-3232-11	TD-3237N-1	TD-3022-1	TD-3332-1	PO01_CC1_2	H2O neg
D												
E	TD-3232-12	TD-3237N-2	TD-3022-2	TD-3332-2	PO01_CC1_3	H2O neg	TD-3232-13	TD-3237N-3	TD-3024-1	TD-3332-3	PO01_CC1_4	H2O neg
F												
G	TD-3232-14	TD-3237N-4	TD-3024-2	B12_CC1	TD-3002-1	H2O neg	Extrneg23060	Extrneg23060	Extrneg230609			
H							150407 A	130408 B	130408 B			Slivio 1:10000 (POS control)

Figura 12.9: Mapa de los pozos utilizados en la reacción del 230609.

12.6. Curvas de qPCR obtenidas en la detección de *T. cruzi*

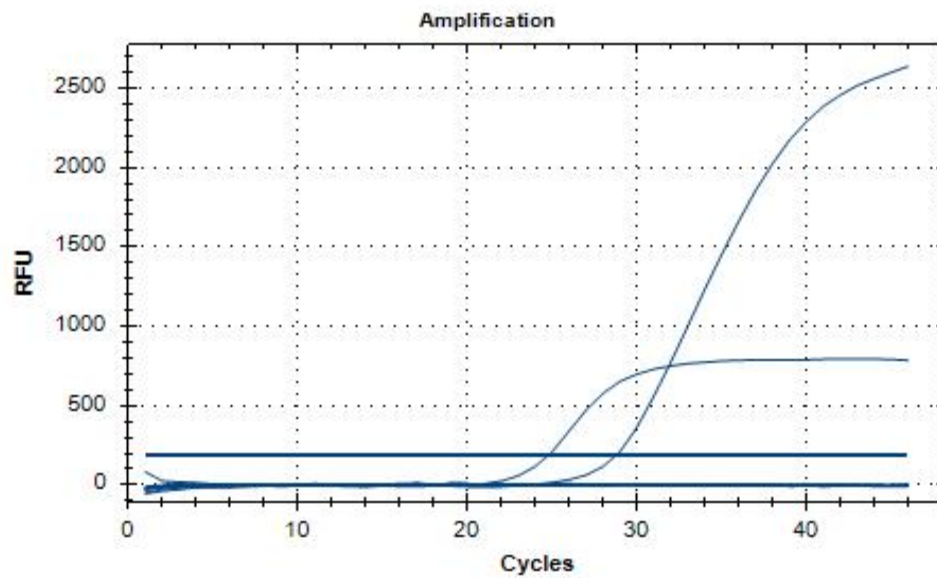


Figura 12.10: Curvas de qPCR obtenidas en la reacción del 230531

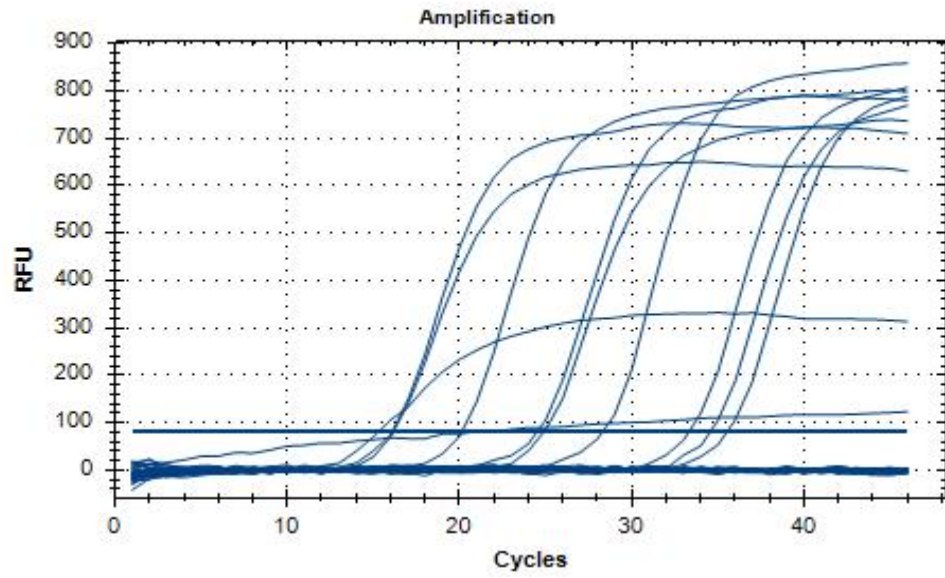


Figura 12.11: Curvas de qPCR obtenidas en la reacción del 230605

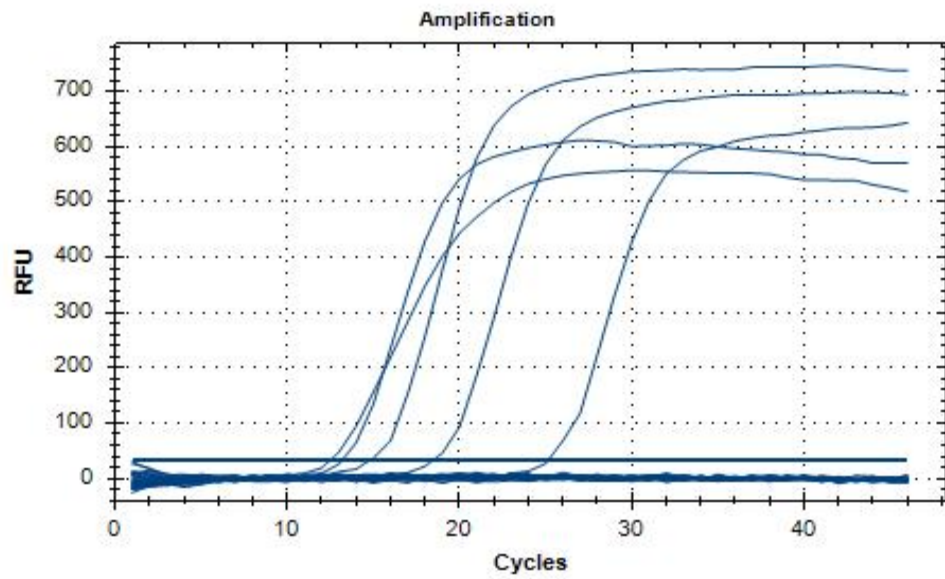


Figura 12.12: Curvas de qPCR obtenidas en la reacción del 230606

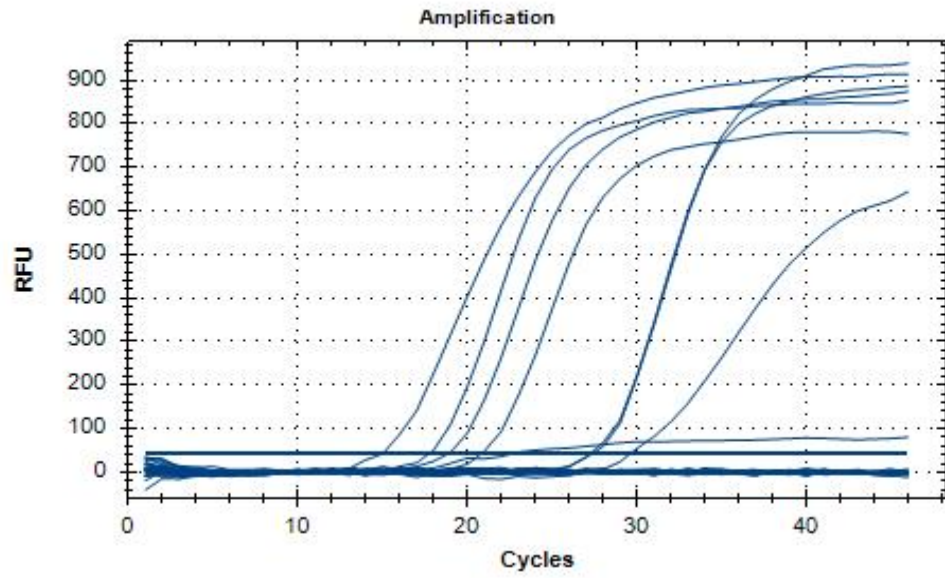


Figura 12.13: Curvas de qPCR obtenidas en la reacción del 230607

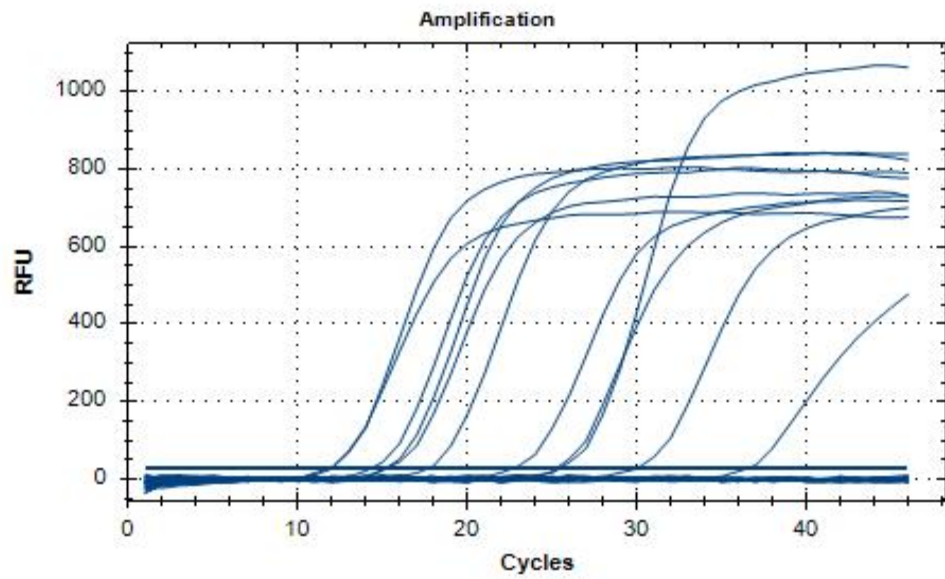


Figura 12.14: Curvas de qPCR obtenidas en la reacción del 230608

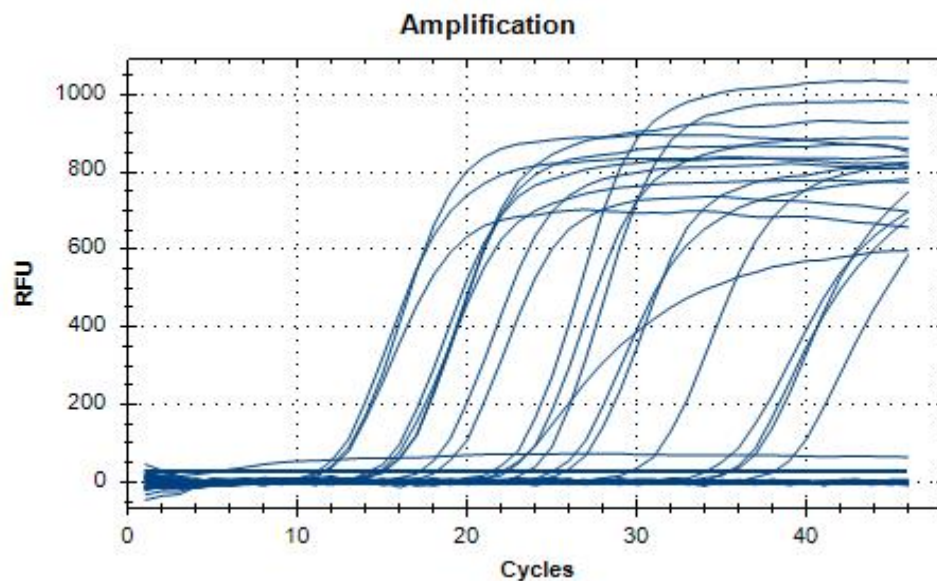


Figura 12.15: Curvas de qPCR obtenidas en la reacción del 230609

12.7. Mapas de los pozos utilizados para las reacciones de qPCR multiplex.

PLATE 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	PO02_CC1	B01_CC1	TD-3231-2	B03_CC1	TD-3236-4	TD-3231-4	H2O DNA Neg	TD-3236-5	B05_CC1	B04_CC1	TD-3226-N-2	B10_CC1
B	B11_CC1	CC1_B12	TD-3226-N-5	TD-3227N-1	B13_CC1	H2O DNA Neg	B14_CC1	TD-3232-9	TD-3168-2	TD22ComapaKB1	PO01_CC1_5	TD-3232-15
C	TD-3237-N-5	TD-3024-3	PO01_CC1_6	PO01_CC1_7	PO02_CC1_4	TD-3156-1	TD-3332-1	H2O DNA Neg	TD-3237-N-2	TD-3332-2	PO01_CC1_3	TD-3237-N-3
D	TD-3024-1	TD-3332-3	TD-3232-14	TD-3237N-4	TD-3024-2	H2O DNA Neg	PS1323 1:100	H2O DNA Neg	Silvio 1:10000	H2O DNA Neg	TcII 1:10000	
E	PO02-CC1-2	TD-3223-4	H2O DNA Neg									
F												
G												
H												

Figura 12.16: Mapa de los pozos utilizados en la reacción de qPCR multiplex con concentraciones normales.

PLATE 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	TD-3231-4 1:10	TD-3236-5 1:10	TD-3226 N-5 1:10	TD22Coma paKB1 1:10	H2O DNA Neg	PO01_CC 1_6 1:10	PO01_CC 1_3 1:10	TD-3332-3 1:10	TD-3232-14 1:10	TD-3231-4 X2	H2O DNA Neg	TD-3236-5 X2
B	TD-3226 N-5 X2	TD22Coma paKB1 X2	PO01_CC 1_6 X2	PO01_CC1_3 X2	TD-3332-3 X2	TD-3232-14 X2	H2O DNA Neg	PS1323 1:100	H2O DNA Neg	Silvio 1:10000	H2O DNA Neg	TcII 1:10000
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Figura 12.17: Mapa de los pozos utilizados en la reacción de qPCR multiplex a mayor o menor concentración.

12.8. Curvas de qPCR multiplex

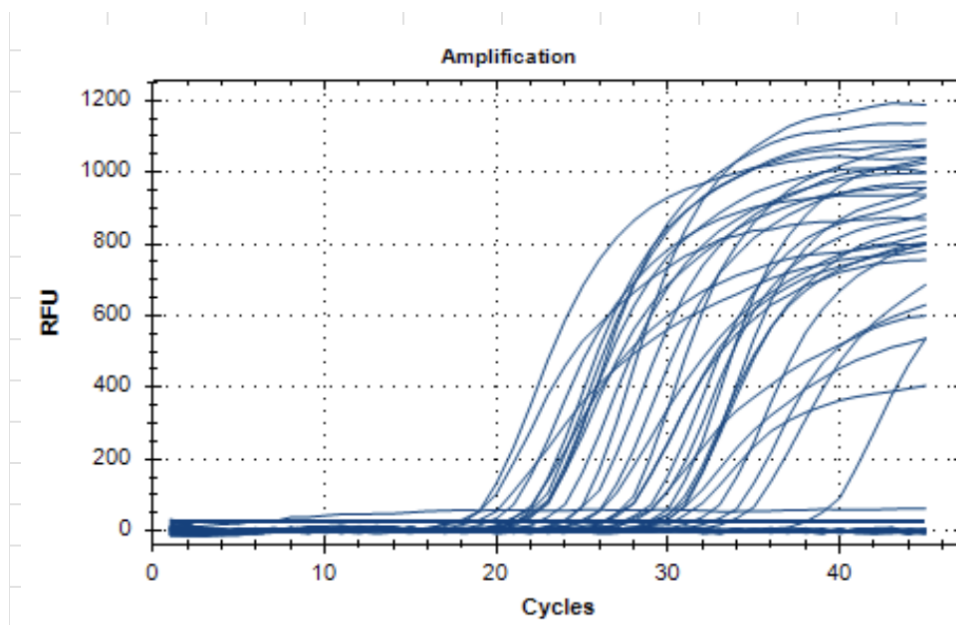


Figura 12.18: Curva de qPCR multiplex para la señal de fluorescencia FAM, con concentraciones normales.

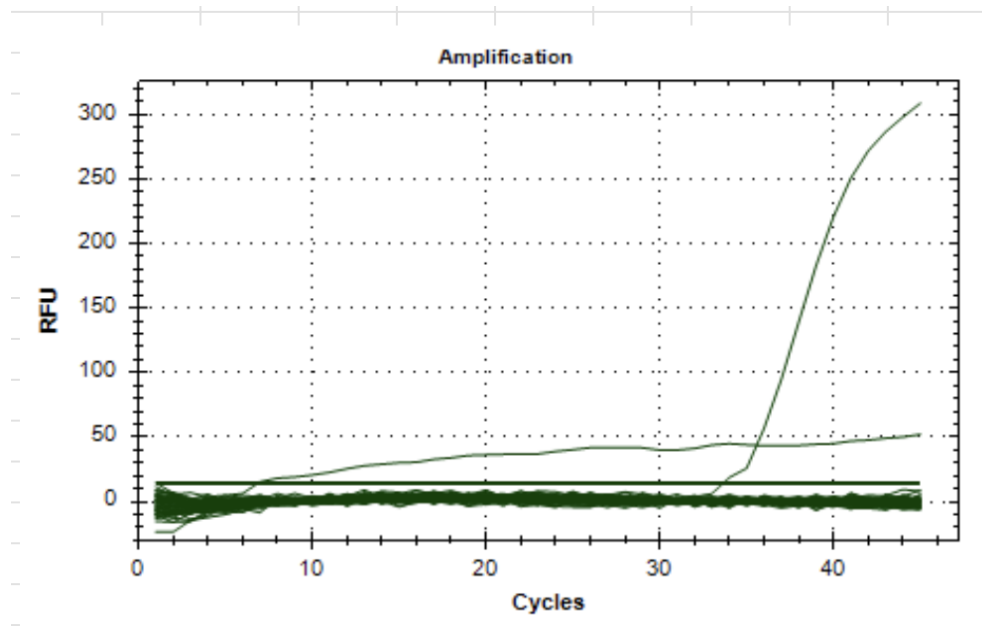


Figura 12.19: Curva de qPCR multiplex para la señal de fluorescencia HEX con concentraciones normales.

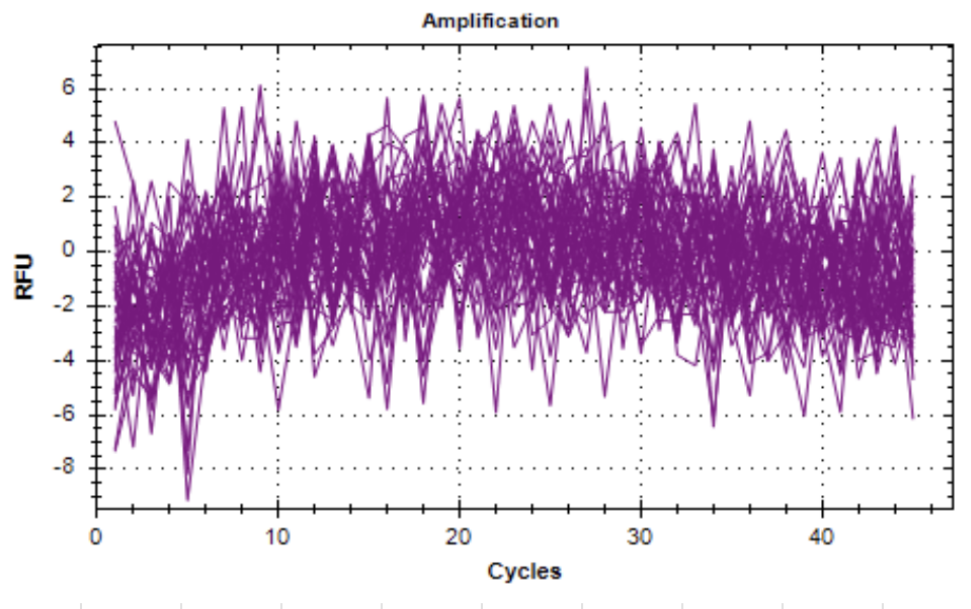


Figura 12.20: Curva de qPCR multiplex para la señal de fluorescencia Quasar 670, con concentraciones normales.

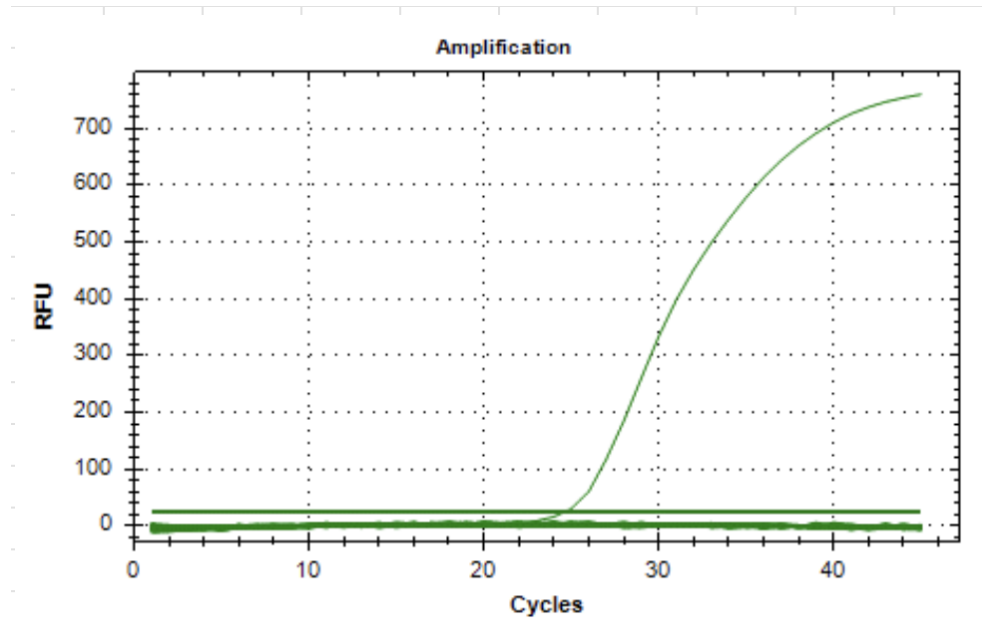


Figura 12.21: Curva de qPCR multiplex para la señal de fluorescencia TEX615, con concentraciones normales.

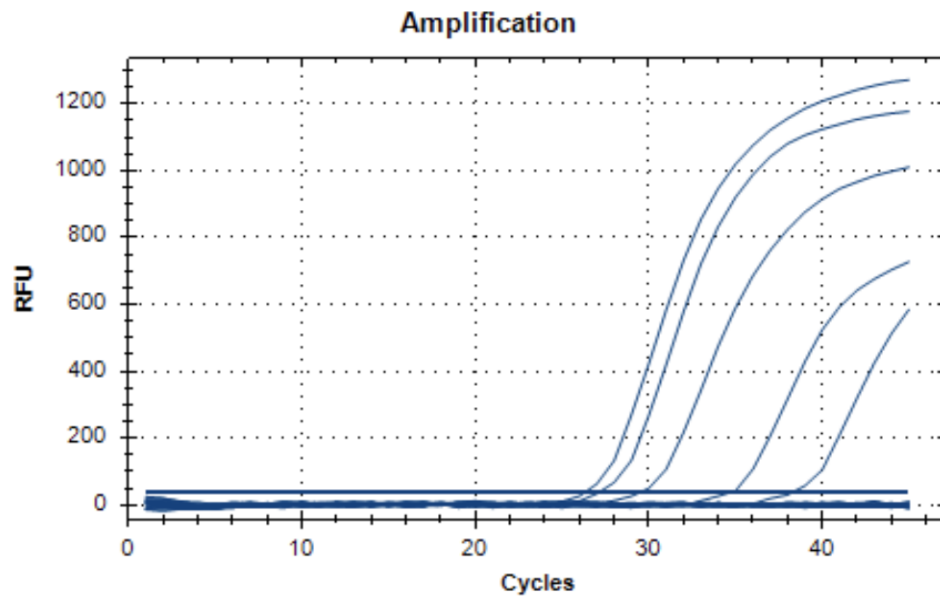


Figura 12.22: Curva de qPCR multiplex para la señal de fluorescencia FAM, a mayor y menor concentración.

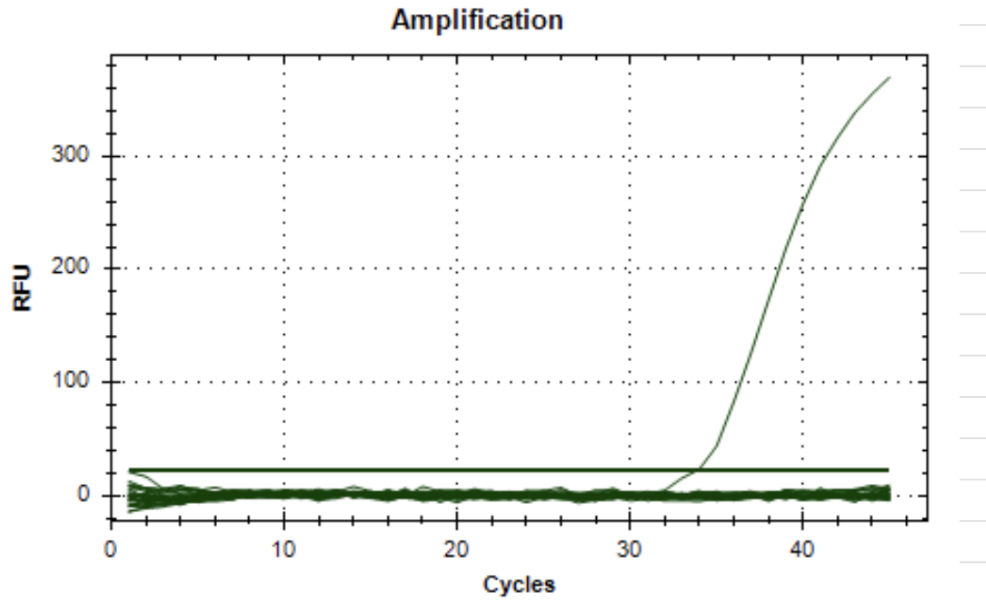


Figura 12.23: Curva de qPCR multiplex para la señal de fluorescencia HEX a mayor y menor concentración.

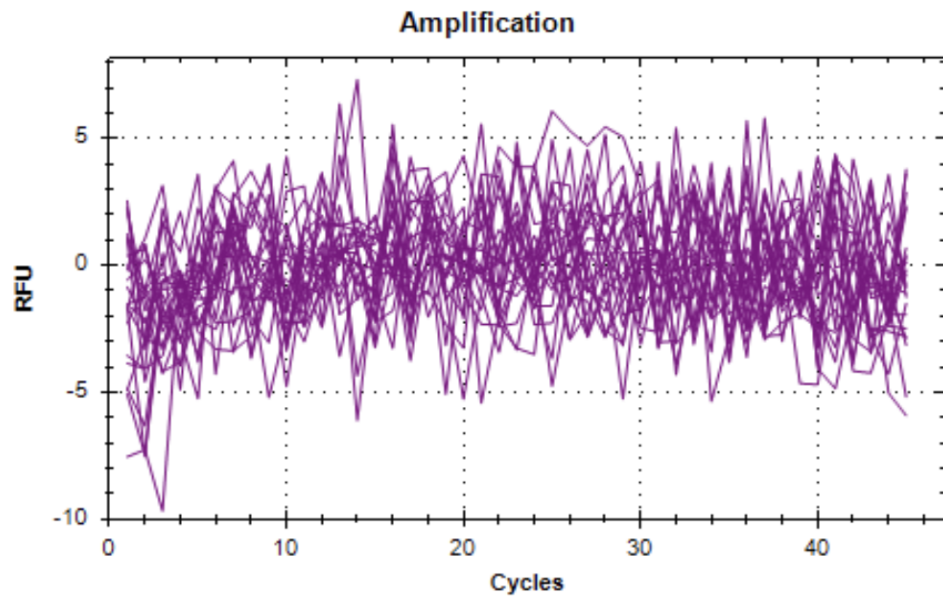


Figura 12.24: Curva de qPCR multiplex para la señal de fluorescencia Quasar 670, a mayor y menor concentración.

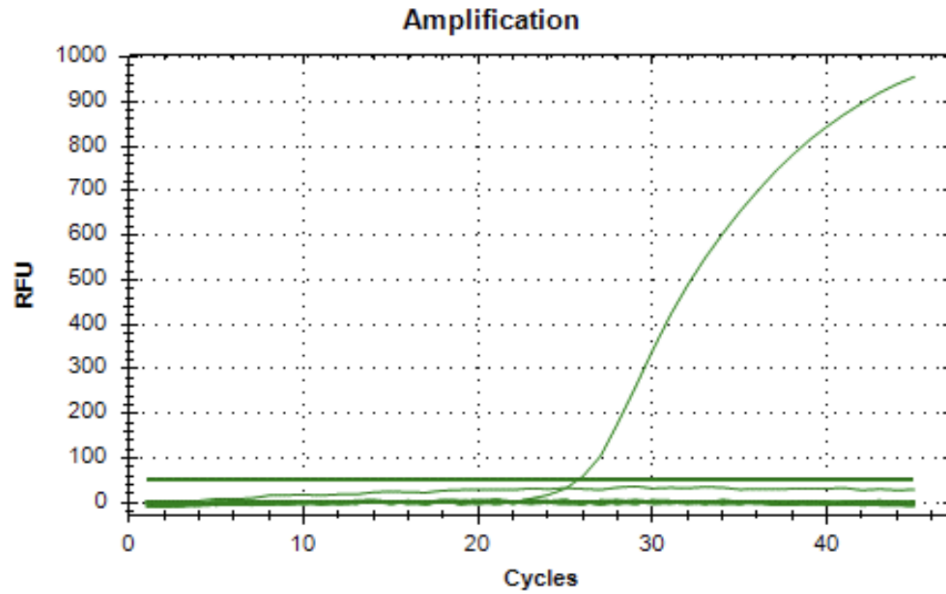


Figura 12.25: Curva de qPCR multiplex para la señal de fluorescencia TEX615, a mayor y menor concentración.

12.9. Información adicional sobre la determinación de cepas de *T. cruzi*

En los Cuadros 12.1, 12.2 y 12.3, se presenta información sobre la determinación de cepas de *T. cruzi* por muestra. Como el ID del triatomino (ID), la comunidad (*Community*) y casa (*Household*) donde se recolectó, así como ubicación Peridomiciliar o Intradomiciliar (*Per_Dom*), resultado de PCR (qPCR_Result), concentración de ADN (Conct of DNA) y la cepa (*Strain*).

Tabla 12.1: Información adicional sobre la determinación de cepas de *T. cruzi*

ID	Community	Household	Per_Dom	qPCR_Result	Conct of DNA	Strain
TD-3236-1	BV	3236	Per	Negative		
TD-3153-1	SA	3153	Dom	Negative		
TD-3223-1	BV	3223	Dom	Negative		
TD-3231-1	BV	3231	Dom	Negative		
B01_CC1	EA	CC1	Per	Positive	Normal	TcI
TD-3236-2	BV	3236	Per	Negative		
TD-3153-2	SA	3153	Dom	Negative		
TD-3223-2	BV	3223	Dom	Negative		
TD-3231-2	BV	3231	Dom	Positive	Normal	TcI
B02_CC1	EA	CC1	Per	Negative		
TD-3236-3	BV	3236	Per	Negative		
TD-3153-3	SA	3153	Dom	Negative		
TD-3223-3	BV	3223	Dom	Negative		
TD-3231-3	BV	3231	Dom	Negative		
B03_CC1	EA	CC1	Per	Positive	Normal	TcI
TD-3236-4	BV	3236	Per	Positive	Normal	TcI
TD-3153-4	SA	3153	Dom	Negative		
TD-3223-4	BV	3223	Dom	Negative		
TD-3231-4	BV	3231	Dom	Positive	1:10_X2	Untypable
B04_CC1	EA	CC1	Per	Positive	Normal	TcI
TD-3236-5	BV	3236	Per	Positive	X2	TcI
TD-3153-5	SA	3153	Dom	Negative		
TD-3223-5	BV	3223	Dom	Negative		
TD-3231-5	BV	3231	Dom	Negative		
B05_CC1	EA	CC1	Per	Positive	Normal	TcI
TD-3236-6	BV	3236	Per	Negative		
TD-3153-6	SA	3153	Dom	Negative		
TD-3223-6	BV	3223	Dom	Negative		
TD-3231-6	BV	3231	Dom	Negative		
B06_CC1	EA	CC1	Per	Negative		
TD-3236-7	BV	3236	Per	Negative		
TD-3153-7	SA	3153	Dom	Negative		
TD-3223-7	BV	3223	Dom	Negative		
TD-3002-1	SB	3002	Per	Negative		
B07_CC1	EA	CC1	Per	Negative		
TD-3232-1	BV	3232	Dom	Negative		
TD-3153-8	SA	3153	Dom	Negative		
TD-3223-8	BV	3223	Dom	Negative		
TD-3005-1	SB	3005	Dom	Negative		
B08_CC1	EA	CC1	Per	Negative		
TD-3232-2	BV	3232	Dom	Negative		
TD-3153-9	SA	3153	Dom	Negative		
TD-3226N-1	BV	3226N	Per	Negative		

Tabla 12.2: Continuación de la información adicional sobre la determinación de cepas de *T. cruzi*

ID	Community	Household	Per_Dom	qPCR_Result	Conct of DNA	Strain
TD-3017-1	SB	3017	Dom	Negative		
B09_CC1	EA	CC1	Per	Negative		
TD-3232-3	BV	3232	Dom	Negative		
TD-3153-10	SA	3153	Dom	Negative		
TD-3226N-2	BV	3226N	Per	Positive	Normal	TcI
TD-3019-1	SB	3019	Per	Negative		
B10_CC1	EA	CC1	Per	Positive	Normal	TcI
TD-3232-4	BV	3232	Dom	Negative		
TD-3153-11	SA	3153	Dom	Negative		
TD-3226N-3	BV	3226N	Per	Negative		
TD-3230-1	BV	3230	Dom	Negative		
B11_CC1	EA	CC1	Per	Positive	Normal	TcI
TD-3232-5	BV	3232	Dom	Negative		
TD-3153-12	SA	3153	Dom	Negative		
TD-3226N-4	BV	3226N	Per	Negative		
TD-3224-1	BV	3224	Dom	Negative		
B12_CC1	EA	CC1	Per	Positive	Normal	TcI
TD-3232-6	BV	3232	Dom	Negative		
TD-3153-13	SA	3153	Dom	Negative		
TD-3226N-5	BV	3226N	Per	Positive	01:10	TcI
TD-3227N-1	BV	3227N	Dom	Positive	Normal	TcI
B13_CC1	EA	CC1	Per	Positive	Normal	TcI
TD-3232-7	BV	3232	Dom	Negative		
TD-3153-14	SA	3153	Dom	Negative		
TD-3226N-6	BV	3226N	Per	Negative		
TD-3160-1	SA	3160	Dom	Negative		
B14_CC1	EA	CC1	Per	Positive	Normal	TcI
TD-3232-8	BV	3232	Dom	Negative		
TD-3153-15	SA	3153	Dom	Negative		
TD-3226N-7	BV	3226N	Per	Negative		
TD-3168-1	SA	3168	Dom	Negative		
B15_CC1	EA	CC1	Per	Negative		
TD-3232-9	BV	3232	Dom	Positive	Normal	TcI
TD-3153-16	SA	3153	Dom	Negative		
TD-3226N-8	BV	3226N	Per	Negative		
TD-3168-2	SA	3168	Per	Positive	Normal	TcI
B16_CC1	EA	CC1	Per	Negative		
TD-3232-10	BV	3232	Dom	Negative		
TD-3153-17	SA	3153	Dom	Negative		
TD-3226N-9	BV	3226N	Per	Negative		
TD-3156-1	SA	3156	Dom	Positive	Normal	TcI
PO01_CC1	EA	CC1	Per	Negative		
TD-3232-11	BV	3232	Dom	Negative		
TD-3237N-1	BV	3237N	Dom	Negative		
TD-3022-1	SB	3022	Per	Negative		

Tabla 12.3: Continuación 2 de la información adicional sobre la determinación de cepas de *T. cruzi*

ID	Community	Household	Per_Dom	qPCR_Result	Conct of DNA	Strain
TD-3332-1	EC	3332	Per	Positive	Normal	TcI
PO01_CC1_2	EA	CC1	Per	Negative		
TD-3232-12	BV	3232	Dom	Negative		
TD-3237N-2	BV	3237N	Dom	Positive	Normal	TcI
TD-3022-2	SB	3022	Per	Negative		
TD-3332-2	EC	3332	Per	Positive	Normal	TcI
PO01_CC1_3	EA	CC1	Per	Positive	1:10_X2	Untypable
TD-3232-13	BV	3232	Dom	Negative		
TD-3237N-3	BV	3237N	Dom	Positive	Normal	TcI
TD-3024-1	SB	3024	Dom	Positive	Normal	TcI
TD-3332-3	EC	3332	Per	Positive	1:10_X2	TcI
PO01_CC1_4	EA	CC1	Per	Negative		
TD-3232-14	BV	3232	Dom	Positive	1:10_X2	Untypable
TD-3237N-4	BV	3237N	Dom	Positive	Normal	TcI
TD-3024-2	SB	3024	Dom	Positive	Normal	TcI
TD22ComapaKB1	NA	NA	Per	Positive	1:10_X2	Untypable
PO01_CC1_5	EA	CC1	Per	Positive	2ul	TcI
TD-3232-15	BV	3232	Dom	Positive	2ul	TcI
TD-3237N-5	BV	3237N	Dom	Positive	2ul	TcI
TD-3024-3	SB	3024	Dom	Positive	2ul	TcI
TD22ComapaKB2	NA	NA	Per	Negative		
PO01_CC1_6	EA	CC1	Per	Positive	1:10_X2	Untypable
PO01_CC1_7	EA	CC1	Per	Positive	Normal	TcI
PO02_CC1	EA	CC1	Per	Positive	Normal	TcI
PO02_CC1_2	EA	CC1	Per	Negative		
PO02_CC1_3	EA	CC1	Per	Negative		
PO02_CC1_4	EA	CC1	Per	Positive	Normal	TcI
PO03_CC1	EA	CC1	Per	NA		
PO04_CC1	EA	CC1	Per	Negative		

12.10. Validación del modelo por medio de la prueba DHARMa

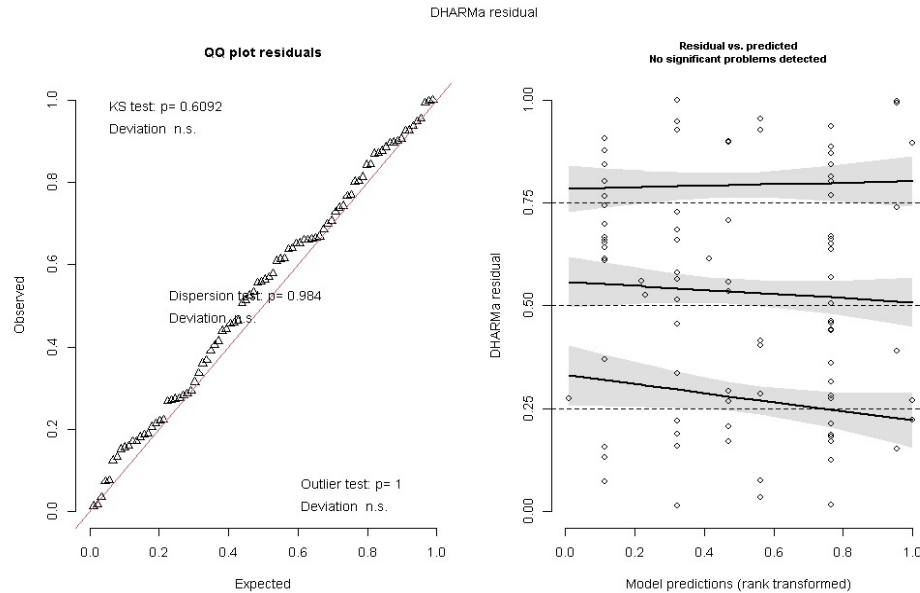


Figura 12.26: Validación del modelo por medio de la prueba DHARMa del modelo más parsimonioso para la predicción de la infectividad de *T. cruzi* en triatomos.

12.11. Script utilizado para el análisis estadístico de la predicción de infectividad de *T. cruzi* en triatomos.

```
#Base de datos en formato tydy, cargar librerias library(readxl) library(ggplot2) library(psych)
library(lattice) library(DHARMa) library(MASS) library(MuMIn)
```

```
#cargar la base de datos A = read_excel("Documents/Quinto/Tesis/Data_base_chinches_modif
_23_09_13.xlsx") View(A) #Comprobar las variables str(A)
```

```
#Cambiar tipo de variable
A$P1 = as.numeric(A$P1)
A$ID = as.factor(A$ID)
A$Household = as.factor(A$Household)
A$Community = as.factor(A$Community)
A$Life_Stage = as.factor(A$Life_Stage)
A$Per_Dom = as.factor(A$Per_Dom)
A$qPCR_Result = as.factor(A$qPCR_Result)
A$P3 = as.factor(A$P3)
A$Int_Td_5 = as.factor(A$Int_Td_5)
A$Per_Td_5 = as.factor(A$Per_Td_5)
A$House8 = as.factor(A$House8)
A$Yard8 = as.factor(A$Yard8)
A$Community8 = as.factor(A$Community8)
A$Work8 = as.factor(A$Work8)
A$PA9 = as.factor(A$PA9)
```

```

A$PB9 = as.factor(A$PB9)
A$PA10 = as.factor(A$PA10)
A$PB12 = as.factor(A$PB12)
A$Int13 = as.factor(A$Int13)
A$Per13 = as.factor(A$Per13)
A$Selv13 = as.factor(A$Selv13)
A$PA14 = as.factor(A$PA14)
A$PB14 = as.factor(A$PB14)

str(A) #Comprobar el cambio de variable

#Eliminacion de NAs row.has.na <- apply(A, 1, function(x)any(is.na(x))) sum(row.has.na) A
<- A[!row.has.na,] any(is.na(A))

str(A) #Al eliminar los NAs paso de 116 a 88 observaciones

#Histograma de variable respuesta: qPCR_Results, indica si el triatomino es positivo o negativo
para T. cruzi. ggplot(A, aes(x = qPCR_Result)) + geom_bar(stat = "count", fill = "green4") +
labs(x = "Triatominos positivos para T. cruzi") #Negativas hay mas que positivas.

#Verificar outliers con Cleveland plots MyVar <- c(.Elev_msnm", "Meassurement", "P1", "PA7")
dotplot(as.matrix(A[,MyVar]), groups=FALSE, strip = strip.custom(bg = 'white', par.strip.text =
list(cex = 0.8)), scales = list(x = list(relation = "free"), y = list(relation = "free"), draw = FAL-
SE), col=1, cex = 0.5, pch = 16, xlab = "Valor de la variable", ylab = ".order de los datos") #no se
observan datos atipicos

#Observar colinealidad source("~/Documents/Quinto/Primer semestre/Biometria/HighstatLibV10-
1.R") MyVar1 = c("Measurement", .Elev_msnm", "P1", "PA7") pairs(A[,MyVar1], lower.panel =
panel.smooth, upper.panel = panel.cor, diag.panel = panel.hist) #Para el coeficiente de correlación
de Pearson, se utilizó un criterio de selección de P menor a +/- 0.7 son colineales #Menores a 0.7
y mayores a -0.7

#Valores de VIF con las variables predictoras corvif(A[,MyVar1]) #Para el valor VIF, < o = 3
#Todas las variables fueron menor a 2

#Formar y seleccionar modelos con distribución Poisson y variable de respuesta Pos.
cand.models <- list()
cand.models[["COMPLEJO"]] <- glm(qPCR_Result~Community + Household + Elev_msnm + Li-
fe_Stage + Per_Dom + Meassurement + P1 + Int_Td_5 + Per_Td_5 + PA7 + Yard8 + Com-
munity8 + PA9 + PB9 + PA10 + PB12 + Int13 + Per13 + Selv13 + PA14 + PB14, data = A,
family = binomial)
cand.models[["Sin_casa"]] <- glm(qPCR_Result~Community + Life_Stage + Per_Dom +
Elev_msnm + Meassurement + P1 + Int_Td_5 + Per_Td_5 + PA7 + Yard8 + Community8 +
PA9 + PB9 + PA10 + PB12, data = A, family = binomial)
cand.models[["Sin_lugar_especifico"]] <- glm(qPCR_Result PA7 + Yard8 + Community8 +
Elev_msnm + PA9 + PB9 + PA10 + PB12 + Int13 + Per13 + Selv13 + PA14 + PB14, data =
A, family = binomial)
cand.models[["Sin_animales"]] <- glm(qPCR_Result~Community + Household + Elev_msnm +
Life_Stage + Per_Dom + Meassurement + P1 + Int_Td_5 + Per_Td_5 + PA7 + Yard8 +
Community8, data = A, family = binomial)
cand.models[["Caracteristicas"]] <- glm(qPCR_Result Life_Stage + Meassurement, data = A, fa-
mily = binomial)
cand.models[["Comunidad"]] <- glm(qPCR_Result~Community + Household + Elev_msnm, data =
A, family = binomial)
cand.models[["Casa"]] <- glm(qPCR_Result~Community + Household + Elev_msnm + P1 +

```



```

Int_Td_5 + Per_Td_5 + PA14 + PB14, data = A, family = binomial)
cand.models[["Animales"]] <- glm(qPCR_Result~Per_Dom + Elev_msnm + Int_Td_5 + Per_Td_5
+ PA7 + Yard8 + Community8 + PA9 + PB9 + PA10 + PB12 + Int13 + Per13 + Selv13, data
= A, family = binomial)
cand.models[["Lugar"]] <- glm(qPCR_Result Per_Dom + Int_Td_5 + Per_Td_5 + PA14 +
Elev_msnm + PB14, data = A, family = binomial)
cand.models[["Caracteristicas_lugar"]] <- glm(qPCR_Result~Life_Stage + Per_Dom + Elev_msnm
+ Measurement , data = A, family = binomial)
cand.models[["Medida_lugar"]] <- glm(qPCR_Result~Per_Dom + Measurement +Elev_msnm ,
data = A, family = binomial)
cand.models[["Sin_Estadio"]] <- glm(qPCR_Result~Community + Elev_msnm + Community8 +
Int_Td_5 + PA10 + PA7 + PA9 + PB9 + PB12 + Per_Td_5 + Yard8 + Int13 + Household +
Per13 + Selv13 + PA14 + PB14, data = A, family = binomial)
cand.models[["Lugar_Avistamiento_Preencion"]] <- glm(qPCR_Result~Community8 +
Elev_msnm + PA10 + Int_Td_5 + Per_Td_5 + PA14 + PB14, data = A, family = binomial)
cand.models[["NULO"]] <- glm(qPCR_Result~1, data = A, family = binomial)

cand.out <- model.sel(cand.models) cand.out

#para seleccionar modelos
cand.out <- model.sel(cand.models) #objeto con seleccion de modelos y los compara con base a
AIC cand.out
#sacar el mejor modelo de la lista de modelos candidatos
top.model<-get.models(cand.out, subset = 1)[[1]]
top.model
options(scipen = 9999) #para quitar notacion cientifica
summary(top.model) #para ver el tamano del efecto

#Se observa NA con Per_Td_5Year

confint(top.model) # intervalo de confianza

#para ver residuales
simulationOutput1 <- simulateResiduals(fittedModel = top.model, plot = T)
#Pasa todas las pruebas

#Citar paquetes
citation(readxl")
citation("ggplot2")
citation("psych")
citation("lattice")
citation("DHARMa")
citation("MASS")
citation("MuMIn")

```