



**Infestación *Attalea butyracea* (palma de corozo) con vectores de la enfermedad de Chagas e infección natural con *Trypanosoma* spp., en la vereda la Macarena, Municipio El Zulia, Departamento Norte de Santander-Colombia.**

Ingrid Yolanda Blanco Quintana

Código: 1005062292

Universidad de Pamplona

Facultad de Ciencias Básicas

Programa de Biología

2021

**Infestación *Attalea butyracea* (palma de corozo) con vectores de la enfermedad de Chagas e infección natural con *Trypanosoma* spp., en la vereda la Macarena, Municipio El Zulia, Departamento Norte de Santander-Colombia.**

Ingrid Yolanda Blanco Quintana

Estudiante

Trabajo de Grado para Optar el Título de Biólogo

MSc. Reinaldo Gutiérrez Marín

Director del proyecto de grado

Universidad de Pamplona

Facultad de Ciencias Básicas

Programa de Biología

2021

*“Cuanto más grande es la dificultad, más gloria hay en superarla”*

Epicuro

## **Dedicatoria**

Esta tesis se la dedico a mi Dios quien supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas, sabiduría, entendimiento, salud para poder seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presenten, por darme la oportunidad de alcanzar esta meta producto de dedicación y esfuerzo.

A mi madre Maria Trinidad Quintana Bautista, por apoyarme incondicionalmente, quien ha creído fielmente en mí, por los triunfos y los momentos difíciles que me han enseñado a valorarte cada día más, por cultivar e inculcar ese sabio don de la responsabilidad y quien siempre tiene una oración para mí.

Esto va por ti mami, te amo.

A mi hermano Juan Carlos Carvajal Quintana, por apoyarme incondicionalmente y ser mi voz de aliento, gracias por siempre creer en mí... los quiero hermanos.

## **Agradecimientos**

Agradezco a Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos y puesto en mí camino las personas correctas, por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

A mi madre y hermanos, por apoyarme incondicionalmente tanto moral, espiritual y económicamente.

A mi director de tesis Dr. Reinaldo Gutiérrez Marín, por su paciencia, comprensión por ser un talentoso maestro y científico apasionado quien tiene la habilidad innata de hacer ver un tema difícil en algo fácil. Mil gracias profe, por apreciar mis fortalezas y la confianza en mis habilidades que al final fueron beneficios para realizar y culminar este proyecto.

Agradezco infinitamente a la familia Duarte Boada por haberme acogido en su hermoso hogar y brindarme su amor incondicional y colaboración en mis días de campo, a ellos mil gracias.

A mi mejor amiga Karol Capacho, amigos de vida Jairo Matajira, Viviana Buitrago, Lina Galvis, Katerine Pérez y Bladimir Galvis, quienes me compartieron sus excelentes consejos y conocimientos, gracias por sus voces de aliento y diversión, los quiero.

También a mis jurados de tesis Dr. Omar Cantillo Barraza y Dr. Humberto Giraldo. Por aceptarme y tener toda la paciencia y tiempo en la revisión del trabajo final.

A la profesora Leidy Niño y personas que con su amor y apoyo nos incentivaron a terminar este proyecto con éxito abriendo las puertas y compartiendo su conocimiento.

A la Universidad de Pamplona y a la Facultad de Ciencias Básicas, por haber contribuido a mi formación y proporcionar el conocimiento suficiente para ser un excelente profesional.

Gracias a todos...

## Tabla de contenido

Resumen.....	11
1. Introducción.....	13
2. Planteamiento del Problema y Justificación.....	20
3. Marco Teórico.....	23
3.1. La Enfermedad de Chagas.....	23
3.1.1. La Enfermedad de Chagas en América.....	23
3.1.2. La Enfermedad de Chagas en Colombia.....	25
3.1.3. La Enfermedad de Chagas en Norte de Santander.....	25
3.2. Sintomatología de la Enfermedad.....	28
3.2.1. Fase Aguda.....	28
3.2.2. Fase Crónica.....	29
3.2.3. Forma Indeterminada.....	29
3.2.4. Forma Cardíaca.....	29
3.2.5. Forma Digestiva.....	29
3.3. Diagnóstico de la Enfermedad.....	30
3.3.1. Etapa Aguda.....	30
3.3.2. Etapa Crónica.....	30
3.4. Tratamiento Enfermedad de Chagas.....	31
3.5. Medidas de Control.....	32
3.6. Caracterización de las Palmas.....	33
3.6.1. Tasa de Infección.....	33
3.6.1.1. Especies.....	34
3.7. Ciclo de Vida.....	34
3.7.1. Ciclo de Transmisión.....	36
3.7.2. Ciclo Domestico.....	36
3.7.3. Ciclo Peridoméstico.....	37
3.7.4. Ciclo Selvático.....	37
3.8. Biología.....	38
3.8.1. Ciclo de Vida del Triatominae.....	38
3.9. Caracterización del Área de Estudio.....	38

4. Estado del Arte .....	39
5. Objetivos .....	42
6. Métodos .....	43
6.1. Área de Estudio.....	43
6.1.1. Selección de las Palmas a Muestrear .....	45
6.1.2. Muestreo de Triatomínos.....	46
6.1.3. Colecta de Datos.....	47
6.1.4. Identificación de las Especies de Palma y Taxonomía de los Triatomínos .....	47
6.1.5. Infestación de Triatomínos .....	48
6.2. Análisis de Infección .....	49
7. Resultados.....	52
7.1. Georreferenciación a Partir de los Sitios de Captura de los Triatomínos .....	52
7.2. Identificación Taxonómica.....	54
7.3. Muestreo de Triatomínos .....	54
7.4. Análisis de Triatomínos .....	55
7.4.1. Examen Directo .....	55
7.5. Caracterización de las Palmas .....	58
7.6. Factores .....	59
7.7. Análisis de Infección.....	62
7.8. Extracción ADN.....	62
7.8.1. Determinación de la Concentración de ADN .....	63
7.9. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).....	64
8. Discusión.....	67
9. Conclusiones.....	70
10. Recomendaciones .....	70
11. Referencias Bibliográficas.....	71
Anexos .....	80

### Lista de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Distribución por municipios y tipos de riesgos de la enfermedad de Chagas.....	27
<b>Tabla 2.</b> Total de triatominos que llegaron vivos y fueron observados por microscopia.....	56
<b>Tabla 3.</b> Índice de infestación y número de adultos/ninfas de <i>Rhodnius</i> sp.....	58
<b>Tabla 4.</b> Número de <i>Rhodnius</i> sp. recolectados según el estado de desarrollo .....	58
<b>Tabla 5.</b> Promedios de Temperatura (°C) y humedad relativa (%) en palmas de <i>A. butyrace</i>	60
<b>Tabla 6.</b> Triatominos que fueron observados por PCR. ....	65

## Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> Mapa de las regiones endémicas de Chagas de América Central y América del Sur y sus respectivas asociaciones con las 14 especies de vectores más importantes .....	14
<b>Figura 2.</b> Cantidad de materia orgánica muerta alojada en las palmas (Abad-Franch. 2005)	16
<b>Figura 3.</b> Distribución de <i>Attalea butyracea</i> en Colombia (Galeano & Bernal 2010).....	18
<b>Figura 4.</b> Consecuentemente, la infección por <i>T. cruzi</i> se mantiene como una zoonosis compleja, lo que hace difícil su erradicación a pesar de los esfuerzos de control del vector en los países endémicos .....	24
<b>Figura 5.</b> Mapa de Norte de Santander índices riesgo municipales enfermedad de Chagas (Felipe Guhl, 2005) .....	27
<b>Figura 6.</b> Ciclo de vida <i>Trypanosoma cruzi</i> (Pavía, 2004) .....	36
<b>Figura 7.</b> Ciclo de transmisión de <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	37
<b>Figura 8.</b> Ubicación geográfica del área de estudio en Colombia junto con los puntos de muestreo. ....	44
<b>Figura 9.</b> Área de muestreo y diferente metodología desarrollada en campo.....	46
<b>Figura 10.</b> Las palmeras se identificaron siguiendo lo establecido por Galeano y Bernal ....	48
<b>Figura 11.</b> Conservación de los especímenes una vez recolectados en campo.....	49
<b>Figura 12.</b> (A-F) muestra algunos sitios de captura y registro de datos.....	53
<b>Figura 13.</b> Identificación taxonómica de los triatominos silvestres mediante el uso de la clave taxonómica .....	54

<b>Figura 14.</b> Observación microscópica para determinar la presencia de parásitos (400X) .....	55
<b>Figura 15.</b> Mapa de infestación de triatominos en las palmas muestreadas <i>A. butyracea</i> . ....	57
<b>Figura 16.</b> Representación gráfica de las diferentes temperaturas y humedades de las palmas <i>A. butyracea</i> . .....	61
<b>Figura 17.</b> Extracción de ADN para cada uno de los especímenes recolectados.....	63
<b>Figura 18.</b> Nanodrop ND-2000, utilizado para medir la cantidad de ADN .....	64
<b>Figura 19.</b> (A y B) Detección de <i>T. cruzi</i> por PCR en <i>Rhodnius</i> sp. ....	66

## Resumen

La enfermedad de Chagas es una de las parasitosis transmitidas por insectos hematófagos de mayor importancia epidemiológica en América Latina y es producida por el protozoo *Trypanosoma cruzi*. Esta enfermedad presenta dos fases clínicas importantes, la aguda y crónica. Las palmas representan un indicador eco-epidemiológico de gran relevancia por su asociación natural con Triatominos, representando un microfoco en la transmisión de *T. cruzi*, tanto en ámbitos silvestres como en el peri-domicilio. Las palmas han evidenciado una asociación natural con algunos vectores que transmiten el parásito, como es el caso de *Rhodnius prolixus*, representando un peligro para la población. El presente estudio tiene como objetivo determinar la infestación de *Attalea butyracea* (palmas de corozo) con vectores de la Enfermedad de Chagas e infección natural con *Trypanosoma* spp., en la vereda la Macarena, Municipio El Zulia, Departamento Norte de Santander-Colombia, para ello se capturaron insectos vectores en palmas de *Attalea butyracea* (palma de corozo) utilizando trampas con cebo vivo. Se encontró un índice de infestación de 31% en 100 palmas y un índice de infección natural de *Trypanosoma* spp., por microscopía se visualizaron parásitos flagelados en extendidos de la ampolla rectal de 4 triatominos (6,25 %) y por PCR se detectó ADN de *T. cruzi* en el contenido intestinal de 25 insectos (40 %), además, bajas densidades de población de triatominos en el ambiente selvático.

**Palabras claves:** *Attalea butyracea*, *Trypanosoma* spp., ecotopo, triatominos.

### Abstract

Chagas disease is one of the most epidemiologically important blood-sucking insect-borne parasitosis in Latin America and is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*. This disease presents two important clinical phases, acute and chronic. Palms represent an eco-epidemiological indicator of great relevance due to their natural association with Triatomines, representing a microfocus in the transmission of *T. cruzi*, both in the wild and in the peri-domicile. Palms have shown a natural association with some vectors that transmit the parasite, as is the case of *Rhodnius prolixus*, representing a danger to the population. The present study aims to determine the infestation of *Attalea butyracea* (corozo palms) with vectors of Chagas disease and natural infection with *Trypanosoma* spp. in La Macarena, Municipality of El Zulia, Department of Norte de Santander-Colombia, by capturing insect vectors in palms of *Attalea butyracea* (corozo palm) using live bait traps. An infestation rate of 31% was found in 100 palms and a natural infection rate of *Trypanosoma* spp. by microscopy, flagellated parasites were visualized in rectal ampulla smears of 4 triatomines (6.25%) and by PCR *T. cruzi* DNA was detected in the intestinal contents of 25 insects (40%), in addition, low population densities of triatomines in the jungle environment.

**Key words:** *Attalea butyracea*, *Trypanosoma* spp., ecotope, triatomines.

## 1. Introducción

El conocimiento de la enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana se inicia con el descubrimiento del agente causal, el *Trypanosoma cruzi*, por el brillante médico brasileño Carlos Chagas en 1909 (Chagas, 1909).

Esta enfermedad causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*, es la infección antroponóptica más importante de América Latina, donde alrededor de ocho millones de personas están infectadas por este parásito (OMS, 2020). Así mismo, el principal mecanismo de transmisión de este parásito es a través de las heces de insectos vectores de varias especies de la subfamilia Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) (Urbano et al., 2015). Algunas investigaciones han demostrado que aproximadamente 72 de las 148 especies de Triatominae están clasificadas como vectores potenciales de *T. cruzi* (Urbano et al., 2015). En Colombia, se han registrado 26 especies de triatominos (Guhl et al., 2007), de las cuales se informó que 15 tenían infecciones naturales por *T. cruzi* (Guhl et al., 2007). Entre ellos, *Rhodnius prolixus* (Stål, 1859) y *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) son los principales vectores en varias regiones del país (Guhl et al., 2009). También se han informado brotes orales de la enfermedad de Chagas en Colombia que involucran triatominos silvestres y genotipos selváticos de *T. cruzi* (Ramírez et al., 2013; Soto et al., 2014). Gran parte de la responsabilidad de la enfermedad de Chagas, se los atribuye a los insectos vectores que tienen una amplia distribución en varios países de la región (Figura 1) que coincide globalmente con la distribución geográfica de la enfermedad. Principalmente la enfermedad afecta las poblaciones de las zonas rurales pobres, debido al alto potencial adaptativo de los vectores a una gama amplia de hábitats, cuando sus nichos naturales son destruidos por la intervención humana. Así, poblaciones silvestres de triatominos que se adaptan a los medios antropizados, inician la transmisión de la enfermedad.

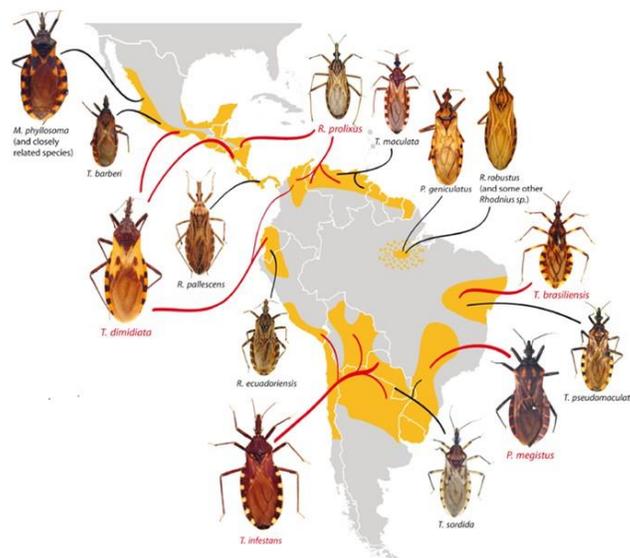
Los estudios sobre la capacidad de dispersión, como la biología de las especies de triatominos, han recibido la mayor parte de la atención por parte de los biólogos y epidemiólogos y, la presente investigación está relacionada principalmente con la caracterización de triatominos silvestres.

### Figura 1.

Mapa de las regiones endémicas de Chagas de América Central y América del Sur y sus respectivas asociaciones con las 14 especies de vectores más importantes. Las cinco especies de vectores más importantes son *T. infestans*, *R. prolixus*, *T. dimidiata*, *P. megistus*, y *T. brasiliensis*. Los géneros son *Triatoma*, *Rhodnius*, *Panstrongylus* y *Meccus* (*Meccus* es sinónimo de *Triatoma* en alguna literatura).

Fuente: Geographical Distribution of Chagas Disease (Patterson & Guhl, 2010).

#### 148 especies de insectos triatominos mantienen la infección de *T. cruzi* en la naturaleza



Patterson & Guhl, 2012

*Nota:* en el presente mapa se define la distribución de la enfermedad de Chagas en América Central y América del Sur. Tomado de Guhl et al., 2010.

Se han informado dos ciclos básicos de transmisión de vectores de *T. cruzi* para la enfermedad de Chagas. El primero es un ciclo doméstico que se caracteriza por la intrusión o

colonización de triatomíneos en ambientes domésticos, lo que posibilita la transmisión del parásito a humanos y animales domésticos (Urbano et al., 2015). El segundo es un ciclo salvaje, en el que la transmisión del parásito se produce entre vertebrados salvajes y triatomíneos (Urbano et al., 2015; Zingales et al., 2012) que habitan en ecotopos de altitud como palmeras, cuevas de animales, madrigueras y nidos de pájaros (Cuaresma et al., 1979; Urbano et al., 2015), siendo muchas especies de triatomíneos exclusivamente silvestres mantienen el ciclo enzoótico del *T. cruzi* en la naturaleza. Un ejemplo clásico son las especies del género *Rhodnius*, que viven en varias especies de palmeras (Cuaresma et al., 1979; Abad-Franch et al., 2009).

El género *Attalea*, es la palmera infestada con mayor frecuencia, se ha encontrado que aproximadamente 20 especies de palmeras están infestadas con colonias de especies de triatomíneos infectados con *T. cruzi* (Guhl et al., 2007); constituyendo un ecotopo natural importante para 18 especies de triatomíneos, principalmente del género *Rhodnius* (Cuaresma et al., 1979; Guhl et al., 2007; Gurgel et al., 2012). *Attalea butyracea* (Mutis ex Lf) Wess.Boer es el biotopo más natural que se encuentra infestado por especies de triatomíneos en diferentes regiones de Colombia (Angulo et al., 2011). Varios estudios han resaltado la importancia de las palmeras como ecotopos naturales de triatomíneos, especialmente especies del género *Rhodnius* sp., importantes vectores de la enfermedad de Chagas en las Américas cuya distribución en ambientes silvestres en América Latina coincide fuertemente con la distribución de palmeras.

La fisonomía de las palmeras varía según el paisaje donde crecen y la biología reproductiva de cada especie. Los eventos reproductivos, el hábito de crecimiento y la frecuencia de abscisión de las hojas secas y los restos de la estructura reproductiva determinan las diferentes fisonomías estructurales en las especies de palmeras (Galeano & Bernal 2010). Además, el tipo de

crecimiento influye en las interacciones interespecíficas con otras plantas, lo que favorece la acumulación de biomasa en sus copas (Figura 2).

**Figura 2.**

Cantidad de materia orgánica muerta alojada en las palmas (Abad-Franch. 2005)



*Nota:* acumulación de biomasa en sus copas propuesto por Abad-Franch (2005).

*A. butyracea* es una especie, que además de las características mencionadas en el párrafo anterior, presenta eventos reproductivos durante todo el año. Esta característica permite la acumulación de biomasa seca en su copa durante largos períodos (Galeano & Bernal 2010), favoreciendo la disponibilidad de microhábitats relativamente estables.

Estudios realizados en la región del Orinoco de Colombia y Venezuela han indicado que las poblaciones de *R. prolixus* son un factor de riesgo para la transmisión de *T. cruzi* a humanos (Fitzpatrick et al., 2008, Guhl et al., 2009). La transmisión vectorial en Colombia representa un problema de salud pública, principalmente en los departamentos de Arauca, Casanare, Norte de Santander y Santander (Guhl et al., 2007). Los estudios realizados en Casanare han revelado una transmisión del parásito caracterizada por las altas tasas de infestación por *R. prolixus* en palmas junto a las viviendas, principalmente de la especie *Attalea butyracea*, y al mismo insecto vector capaz de llegar a los domicilios (Angulo et al., 2012).

En el país, *A. butyracea* se encuentra ampliamente distribuida, en zonas secas del Caribe, en el valle del Magdalena, en la cuenca alta del Río Cauca, en los Llanos Orientales, por el sur hasta el Río Guaviare llegando a zonas húmedas aledañas en Urabá, en el Magdalena Medio y la Amazonía (Figura 3). En los Llanos Orientales (Casanare, Arauca y Vichada) forma grandes poblaciones en los bosques de galería a lo largo de los caños, y sirve como refugio para un amplio rango de mamíferos, aves, reptiles y anfibios (Galeano & Bernal 2010). Por esta razón, muchos de los mamíferos encontrados en las copas de las palmas, tales como marsupiales, vermilinguos y quirópteros, entre otros, sirven como fuente alimenticia para los triatomíneos y son potenciales reservorios del parásito y actores principales de la dinámica de transmisión dentro del ciclo selvático. Adicionalmente, el uso de las hojas de palma para la construcción de techos de las viviendas en áreas rurales es un factor de riesgo de transmisión, y la utilización de los frutos para la elaboración de jugos y vino ha incrementado el riesgo de infección del parásito por vía de transmisión oral.

La infestación en diferentes especies de palmas es frecuente y está ampliamente distribuida a lo largo del continente americano, teniendo en cuenta la diferencia de varios aspectos heterogéneos importantes tales como la geografía, las características propias de cada palma y los rasgos del paisaje.

Estudios recientes llevados a cabo en el departamento de Casanare han mostrado grandes poblaciones de *R. prolixus* selváticos asociadas a palmas nativas de *A. butyracea*, y a palmas introducidas en cultivos agroindustriales de la especie *Elaeis guineensis* (palma africana). Los índices de infección natural reportados por *T. cruzi* encontrados en los insectos capturados en estas especies de palma han sido de 67% y 41% respectivamente, y los índices de infestación de 92,8% y 100% respectivamente (Guhl et al., 2007).

### Figura 3.

Distribución de *Attalea butyracea* en Colombia (Galeano & Bernal 2010).



*Nota:* en el país *A. butyracea* se encuentra ampliamente distribuida, en zonas secas del Caribe, en el valle del Magdalena, en la cuenca alta del Río Cauca, en los Llanos Orientales, por el sur hasta el Río Guaviare llegando a zonas húmedas aledañas en Urabá, en el Magdalena Medio y la Amazonía (Galeano & Bernal 2010).

Debido a grandes cambios en el paisaje ocasionados principalmente por intervención humana, y a la poca eficiencia de las estrategias de control en áreas endémicas, se han presentado casos de reinfestación de triatominos en las viviendas por poblaciones silvestres de *R. prolixus* (Fitzpatrick et al., 2008). Variables de importancia para el esclarecimiento de los ciclos de transmisión: densidades poblacionales, distribución y ciclos reproductivos de vectores y reservorios, índices de infestación en palmas cercanas a las viviendas e índices de infección en

triatominos, pueden verse afectadas por diferentes tipos de intervención humana como deforestación, actividades de agricultura extensivas, sobre-explotación de sabanas para ganadería y extracción de petróleo. Este tipo de presión ambiental, resulta en la reducción de bosques primarios y en la expansión de áreas abiertas que terminan disminuyendo la abundancia de reservorios silvestres y la disponibilidad de nichos naturales para los insectos, obligándolos a colonizar ambientes cercanos como las viviendas humanas (Costa & Peterson 2012).

Adicionalmente, la intervención sobre el hábitat de cientos de animales puede aumentar el riesgo de infección con el parásito al favorecer, por ejemplo, reservorios que tienen una expectativa de vida corta pero altas tasas reproductivas, lo que puede llevar a introducir una mayor cantidad de individuos susceptibles en áreas de transmisión. Se ha reportado que la tasa de infección en el vector es significativamente mayor en hábitats deforestados que en bosques continuos (Urbano et al., 2015), lo anterior teniendo en cuenta que, al reducir la oferta de ecotopos naturales se puede ver afectada la tasa de encuentro entre humanos y reservorios, alterando la probabilidad de infección por contacto.

El presente trabajo pretende determinar la infestación *Attalea butyracea* con vectores de la Enfermedad de Chagas e infección natural con *Trypanosoma* spp., en la vereda la Macarena, Municipio El Zulia, Departamento Norte de Santander-Colombia. La investigación de la infestación e infección de *Attalea butyracea*, se llevó a cabo por medio del examen microscópico del contenido fecal o intestinal de los triatominos recolectados. Así mismo, extracción de ADN y amplificación por PCR de los ejemplares de triatominos capturados y, por último, clasificar las características comunes que presentan las palmas de corozo (*Attalea butyracea*) con mayor presencia de triatominos.

## 2. Planteamiento del Problema y Justificación

La enfermedad tropical de Chagas es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* Chagas (1909), considerada desatendida por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Existen más de 6 millones de personas infectadas en 21 países de América Latina y se estima que 70 millones de personas están en riesgo de contraer la enfermedad (*World Health Organization*). El agente etiológico es el que es transmitido al humano, principalmente por vectores de diversas especies de la subfamilia Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), la cual puede ser transmitida de varias formas, principalmente vectorial, por contacto de la piel o las mucosas de triatominos infectados.

En relación con triatominos en Norte de Santander, un estudio sobre la vigilancia de triatominae (Hemiptera: Reduviidae) en Norte de Santander por Montaña (2015), se identificaron ocho especies en total de triatominos distribuidas en 28 municipios del departamento de Norte de Santander, entre ellos el municipio de El Zulia: *B. ferroae* (1), *E. mucronatus* (18), *Eratyrus* sp., (1), *P. geniculatus* (26), *Panstrongylus* sp., (3), *R. pallescens* (4), *R. pictipes* (7), *R. prolixus* (13), entre otros, (Parra et al., 2015). De igual forma, se identificaron 26 especies de triatominos tanto de ambiente silvestre como de peri-domicilio y domicilio en Colombia, donde 15 especies se han reportado con infección natural por *T. cruzi* (Guhl et al., 2007) siendo *Rhodnius prolixus* y *Triatoma dimidiata* los vectores principales, caracterizados, además, por su habilidad para adaptarse a ambientes silvestres y domésticos (Guhl et al., 2007 & Cantillo et al., 2010). Tanto en ámbitos silvestres como en el peri-domicilio, las palmas representan un factor de gran relevancia por su asociación natural con Triatominos (Salazar et al., 2003), siendo un foco en la transmisión de *T. cruzi* (Angulo et al., 2012). De las 550 especies de palmas descritas en América, 240 se encuentran en Colombia y su distribución coincide con las zonas endémicas de transmisión de *T. cruzi* (Salazar et al., 2003). Por otro lado, el 4 de octubre de 2019, en Colombia

66 municipios fueron certificados internacionalmente por interrumpir la transmisión vectorial de *T. cruzi* por *R. prolixus* intradoméstico. La certificación le fue otorgada al país luego de que una comisión de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) evaluó, siendo uno de los municipios El Zulia en ser certificado en Norte de Santander, entre otros (OPS/OMS, 2019).

En la vereda la Macarena se encuentra ubicada vía El Zulia - la Ye de Astilleros - Sardinata. Cuenta con una población rural dispersa, dedicado a diferentes actividades económicas agrícolas y de comercio. Dicha comunidad posee conocimiento en cuanto a la identificación de los vectores de triatomíneos, posibles transmisores del parásito *T. cruzi*. Dentro de los cultivos agrícolas importantes de la región se encuentran las palmas, las cuales presentan una asociación natural con algunos vectores que transmiten el parásito *T. cruzi*., como es el caso de *R. prolixus* (Stål, 1859) el cual se ha adaptado extremadamente bien a los domicilios humanos; adicionalmente, se han encontrado poblaciones abundantes de *R. prolixus* silvestres asociadas a palmas nativas, *A. butyracea*, y a palmas introducidas en cultivos agroindustriales, *E. guineensis* (Jacq, 1763) (Guhl et al., 2007).

Por lo anterior, se hace necesario un plan de estudio para conocer la tasa de infección del parásito *Trypanosoma cruzi* en los vectores de triatomíneos presentes en las palmas del área de estudio seleccionada, vereda La Macarena – municipio El Zulia, Norte de Santander. Para lo cual es necesario utilizar diversas metodologías para su recolección, diagnóstico y resultados.

Adicionalmente, plantear interrogantes como: ¿qué tipo de vectores transmisores del parásito existen en la región?, ¿qué características poseen las palmas para su asociación con la presencia de triatomíneos?, ¿Cuál método resulta más efectivo para la captura de triatomíneos?, ¿por qué es importante para la comunidad conocer las consecuencias que genera la infección de triatomíneos con *T. cruzi*?, ¿Cuáles animales de los presentes en la zona son potenciales reservorios del

parásito *T. cruzi*? y finalmente saber ¿Cuál es la infestación en *Attalea butyracea* con vectores de la Enfermedad de Chagas e infección natural con *Trypanosoma* spp., en la vereda la Macarena, Municipio El Zulia, Departamento Norte de Santander, Colombia?

### **3. Marco Teórico**

#### **3.1. La Enfermedad de Chagas**

La enfermedad de Chagas se ha estudiado desde comienzos del siglo XX, época en la cual el médico brasileño Carlos Chagas (1879 -1934) descubre un flagelado: el *Trypanosoma cruzi* y describe su ciclo biológico (Guhl et al., 2005).

El hábitat de esta especie es propio del clima de selva tropical, de zonas ubicadas en altitud por debajo de los 2100 metros sobre el nivel del mar; descansa de día y sale de noche a comer, atraído por la temperatura corporal de los animales de sangre caliente, debido a que posee un sistema de captación de calor (Guhl, 1999).

##### **3.1.1. La Enfermedad de Chagas en América**

La enfermedad de Chagas, existe en el continente americano desde el extremo sur de América del Norte hasta la zona central de Chile y Argentina y constituye una amenaza permanente para la población de América Latina. Las estimaciones de la Organización Mundial de la Salud indican que aproximadamente 6 millones de personas están infectadas. En Colombia la enfermedad de Chagas se considera un problema de salud pública, debido a que cerca del 5% de la población ya está infectada y el 20% está en riesgo de transmisión (Hoyos et al., 2007), en los últimos años se ha incrementado el número de casos notificados, atribuidos muy posiblemente al fortalecimiento de la vigilancia epidemiológica y la capacidad de diagnóstico de laboratorio de las Direcciones Territoriales de Salud (López, 2006).

La enfermedad de Chagas, es el resultado de la infección por el *Trypanosoma cruzi*, un protozoo que tiene como reservorio diversos animales salvajes en zonas rurales de varios países de Suramérica y América Central, es transmitido al hombre por insectos hematófagos



responsable del desarrollo de la ECh, que en su fase crónica sintomática produce daño cardíaco y digestivo (J). Imágenes tomadas y modificadas de diferentes fuentes de internet y obtenidas en el laboratorio (I, fibroblasto infectado con parásitos transfectados con EGFP).

### **3.1.2. La Enfermedad de Chagas en Colombia**

En Colombia, los primeros estudios de la enfermedad aparecen en 1946. Sin embargo, el estudio más significativo, sobre las características clínicas de la cardiomiopatía de Chagas, corresponde a Ucrós, publicado en 1971, efectuado en 141 pacientes evaluados en el Hospital San Juan de Dios de Bogotá (Ucrós et al., 1971). En este estudio la entidad predominó en el sexo masculino, con evidencia de falla cardíaca en un 58% de los casos. Por orden de frecuencia las alteraciones electrocardiográficas más comunes fueron: bloqueo completo de la rama derecha del haz de His, bloqueo auriculo-ventricular y fibrilación auricular.

Se ha detectado con frecuencia a lo largo del Valle del río Magdalena, en la región del Catatumbo, la Sierra Nevada de Santa Marta, el piedemonte de los Llanos Orientales y la Serranía de la Macarena. Los departamentos que presentan una mayor endemia son: Santander, Norte de Santander, Cundinamarca, Boyacá, Casanare y Arauca. En el país se han hecho avances importantes en la identificación del área endémica, el control de la transmisión transfusional y el control vectorial en varios municipios con alta infestación por triatomíneos. Sin embargo, hay vacíos importantes sobre detección temprana de casos agudos, el acceso al diagnóstico, la calidad y cobertura de atención de la fase crónica, tanto en lo relacionado con tratamiento etiológico como con el manejo de la cardiopatía.

### **3.1.3. La Enfermedad de Chagas en Norte de Santander**

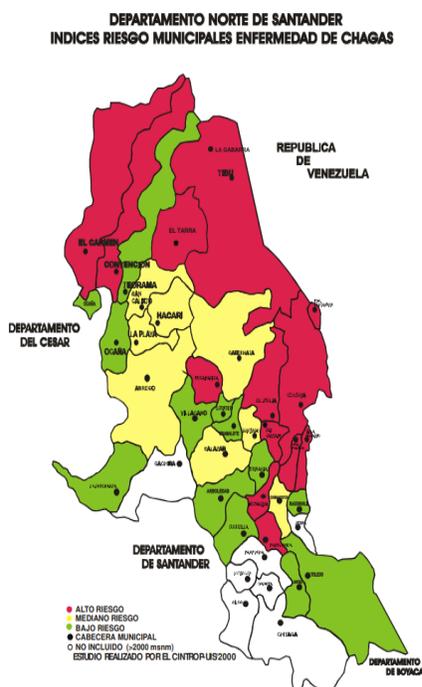
En cuanto al departamento de Norte de Santander se encontró que a partir de los resultados realizados en la fase I del Programa Nacional de Control de la Enfermedad de Chagas en

Colombia hasta el año 2000, se determinó para el Departamento Norte de Santander 13 municipios de Alto Riesgo, 8 de Mediano Riesgo y 11 de Bajo Riesgo a partir de encuestas serológicas y entomológicas. Estos datos se obtuvieron de visitar 32 municipios de los 40 existentes. El departamento de Norte de Santander tiene la tercera mayor seroprevalencia (10.9 casos/1.000 habitantes), sin embargo, se considera que el número de municipios de Alto Riesgo para la enfermedad de Chagas es mayor a los reportados, lo anterior se debe a la homogeneidad de condiciones geográficas y socioeconómicas (Felipe Guhl, 2005). Teniendo en cuenta los resultados del Programa Nacional en el año 2000 y la experiencia del grupo, se planificó y ejecutó actividades de control focalizado en las veredas señaladas como Alto Riesgo.

Las intervenciones incluyeron caracterización de las viviendas, capturas entomológicas y rociamientos con insecticidas. Entre octubre de 2000 y diciembre de 2004 examinaron 9.366 viviendas de los municipios: Cúcuta, Los Patios, Villa del Rosario, El Zulia, Bochalema, Puerto Santander, San Cayetano, Santiago y Toledo. En total se encontraron 343 viviendas con presencia o rastros de triatominos, y 489 ejemplares identificados taxonómicamente (Felipe Guhl, 2005).

**Figura 5.**

Mapa de Norte de Santander índices riesgo municipales enfermedad de Chagas (Felipe Guhl, 2005).



*Nota:* mapa de estudio realizado entre los años de 2002-2004 (Felipe Guhl, 2005).

**Tabla 1.**

*Distribución por municipios y tipos de riesgos de la enfermedad de Chagas.*

RIESGO	N° MUNICIPIOS	%
ALTO	13	40.63
MEDIO	8	25.0
BAJO	11	34.38
NO INCLUIDOS (>2000m.s.n.m.)	8	-

*Nota:* en este estudio realizado entre los años de 2002-2004, el municipio de El Zulia se encontraba focalizado como zona con presencia de alto riesgo para esta enfermedad (Felipe Guhl, 2005).

Posteriormente, el 4 de octubre de 2019, en Colombia 66 municipios fueron certificados mundialmente por interrumpir la transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas, la certificación le fue otorgada al país luego de que una comisión de la Organización Panamericana de la Salud (OPS). La comisión verificadora de la OPS visitó municipios como Arauca (Arauca), El Zulia (Norte de Santander) y Yopal, Pore, Nunchía y Sabanalarga (Casanare) la muestra seleccionada, para verificar las condiciones de interrupción de transmisión de la enfermedad: realizó entrevistas con ciudadanos, revisó condiciones de infraestructura, recopiló informes de las autoridades salud y empezó a analizar los resultados de las acciones gubernamentales, (OPS/OMS, 2019) siendo Norte de Santander certificado en impedir la transmisión, algunos municipios fueron: Santiago, El Zulia y San Cayetano.

Héctor Cotto, asesor de OPS/OMS y líder de la comisión, aseguró que en las visitas a los territorios y en los análisis de los informes se evidenció que el país y los municipios hicieron un gran esfuerzo por bloquear los riesgos de infección de la enfermedad de Chagas (OPS/OMS, 2019).

## **3.2. Sintomatología de la Enfermedad**

### **3.2.1. Fase Aguda**

En esta fase el parásito circulante está en sangre en cantidades detectables, los síntomas pueden persistir hasta 12 semanas después de su inicio o desaparecer espontáneamente. Entre las manifestaciones clínicas se encuentran las mialgias en un 50%, la cefalea en el 47,5% de los casos y en un 45,8% está el signo de Romana que se produce si la penetración es por la conjuntiva ocular, entre otras.

### **3.2.2. Fase Crónica**

Se caracteriza porque inicia desde el momento en que la infección se hace persistente y ya se encuentra resuelto el episodio agudo. Aproximadamente el 70% de los casos no desarrollan daño en órganos blanco y persisten asintomáticos el resto de la vida, denominándose forma indeterminada.

### **3.2.3. Forma Indeterminada**

La presentan personas positivas en la serología que no tienen manifestaciones clínicas ni signos en el electrocardiograma o en la radiografía de tórax. Anualmente, 2 a 5% de los pacientes con esta presentación evolucionan a la forma cardíaca de la enfermedad. En zonas endémicas en las que persiste la transmisión vectorial, esas personas sirven de reservorio de la infección por *T. cruzi* y contribuyen al mantenimiento del ciclo vital del parásito.

### **3.2.4. Forma Cardíaca**

Esta fase se caracteriza por el compromiso cardíaco que evoluciona a miocardiopatía dilatada e insuficiencia cardíaca congestiva, ocurre en aproximadamente el 30% de los casos crónicos y es la causa principal de mortalidad por enfermedad de Chagas (cardiopatía más agresiva por encima de la enfermedad coronaria) secundaria a lesiones microvasculares.

### **3.2.5. Forma Digestiva**

Esta forma no es frecuente en Colombia y afecta vísceras huecas como esófago o colon clínicamente de dos formas: el megaesófago y el megacolon, en el primero el principal síntoma es la disfagia, que es lentamente progresiva y se exacerba por la ingestión de alimentos.

Enfermedad congénita: se considera que la enfermedad de Chagas en el embarazo tiene un bajo riesgo perinatal y la mayoría de los partos se dan a término. La transmisión se puede dar en

cualquier trimestre de embarazo y la infección de la madre no contraindica la lactancia (Zambrano, 2010).

### **3.3. Diagnóstico de la Enfermedad**

El diagnóstico de laboratorio depende de la fase de la enfermedad, si se sospecha fase aguda, deben preferirse los exámenes parasitológicos, pues el parásito por definición, es fácilmente detectable. Cuando se trata de confirmar o excluir un individuo con sospecha de fase crónica, se deben preferir los exámenes serológicos, que son más sensibles, rápidos, económicos y reproducibles. El diagnóstico de la infección por *Trypanosoma cruzi* depende de la fase de la enfermedad.

#### **3.3.1. Etapa Aguda**

- Examen directo: en sangre periférica.
- Método de Strout: por centrifugación.
- Micro hematocrito: este método es recomendado en los recién nacidos, por la escasa cantidad de sangre utilizada.
- Hemocultivo: consiste en la siembra de sangre infectada en un medio apropiado en busca de crecimiento parasitario.
- Serología: en la etapa aguda la capacidad de identificar anticuerpos se registra a partir de la 4ª semana de la infección.

#### **3.3.2. Etapa Crónica**

- Inaparente sintomática: el diagnóstico se basa en el hallazgo de anticuerpos circulantes anti *T. cruzi*.

- ELISA: (enzyme-linked immunosorbent assay) se destaca su utilización para pruebas de tamizaje por su alta sensibilidad y es actualmente el método diagnóstico más difundido.
- Inmunofluorescencia indirecta (EFI): la sensibilidad es del 100% en estas etapas, y su especificidad es cercana al 100%.
- Hemaglutinación indirecta (HAI): se considera una técnica sencilla con limitaciones operativas, pero de adecuada sensibilidad y especificidad.
- Diagnóstico en la infección crónica: durante las infecciones crónicas los métodos parasitológicos generalmente producen resultados negativos y aun el xenodiagnóstico es positivo en menos del 50% de los casos.
- Electrocardiograma: radiografía de tórax y estudios digestivos de esófago-gastro-duodeno y colon por enema.
- Estudios a nivel digestivo: estudios de manometría esofágica y rectal. Estudios contrastados baritados y con radiocoloides, endoscopias.

Su diagnóstico podría llevar a realizar un tratamiento fisiopatológico más precoz a fin de evitar o retardar la progresión de las lesiones.

#### **3.4. Tratamiento Enfermedad de Chagas**

Con la aparición del nifurtimox en 1965, el tratamiento etiológico de los individuos infectados con *Trypanosoma cruzi* cuenta con medicamentos efectivos. Su eficacia se comprobó inicialmente en el tratamiento de personas infectadas durante la etapa aguda de su infección, donde por lo menos la mitad de los pacientes tratados presentó exámenes parasitológicos seriados y serológicos negativos en plazos que variaban entre meses y pocos años. A partir de 1971 se iniciaron los estudios sobre los resultados con benzonidazol (Bz), cuya eficacia fue

similar o, inclusive, superior al nifurtimox en pacientes tratados durante la fase aguda (Rassi et al., 1992).

Los principales problemas, con respecto a los fármacos disponibles, son los largos periodos de tratamiento y los efectos secundarios en el mecanismo de acción de nifurtimox que involucra un metabolito reductivo lo cual lleva a la formación de radicales altamente tóxico. El nifurtimox provoca más comúnmente manifestaciones secundarias asociadas al aparato digestivo tales como epigastralgias, hiperoxia, náuseas, vómitos, y pérdida de peso (López, 2006).

### **3.5. Medidas de Control**

Al ser la enfermedad de Chagas transmitida en el 80% de los casos por medio de insectos vectores de la subfamilia Triatominae, se han establecido pautas técnicas para el control de *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) y en marzo del 2003, se definieron criterios para la certificación de eliminación de *Rhodnius prolixus* (Stål, 1859), el cual consiste en los siguientes lineamientos:

1. Determinación del área de trabajo.
2. Encuesta entomológica basal.
3. Eliminación y control de vectores transmisores.
4. Vigilancia epidemiológica comunitaria.
5. Vigilancia epidemiológica.

Observando que para un mejor manejo hay que tener en cuenta el mejoramiento de la calidad de vida de los pobladores en cuanto a viviendas y saneamiento ambiental.

### 3.6. Caracterización de las Palmas

Las palmas representan un ecotopo habitualmente seleccionado por varias especies de triatomíneos en América Latina, algunos de los cuales son vectores primarios del *Trypanosoma cruzi*: *Rhodnius prolixus* (Stål, 1859) y *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835); otros actúan como vectores secundarios: *R. robustus*, *R. pictipes*, *R. neglectus*, *Triatoma sordida* (Stål, 1859), etc. A su vez, los palmares son los biotopos originales de varias de las especies antes mencionadas y pueden desempeñarse como centros de dispersión hacia ecotopos peridomésticos, entre los que figuran los corrales de aves y hábitats artificiales, incluida la vivienda humana. La dispersión de vectores entre hábitats selváticos y domésticos puede ocurrir de forma activa cuando los insectos son atraídos a las casas por la luz, además, en algunos lugares las hojas de palma son utilizadas para construir los techos de las viviendas en áreas endémicas creando posibles focos de infección (Guhl et al., 2009).

La infestación en diferentes especies de palmas es frecuente y está ampliamente distribuida a lo largo del continente americano, teniendo en cuenta la diferencia de varios aspectos heterogéneos importantes tales como la geografía, las características propias de cada palma y los rasgos del paisaje. Muchas palmas de importancia económica y cultural, incluso palmas ornamentales, albergan poblaciones de triatomíneos, y aparte de ser un refugio para los insectos vectores son el hábitat ocasional o permanente para una gran diversidad de fauna como mamíferos, aves, reptiles y anfibios que sirve como fuente de alimento para los triatomíneos (D'Alessandro et al., 1984).

#### 3.6.1. Tasa de Infección

La transmisión del parásito depende de factores como la tasa de infección de las distintas especies y el tiempo de defecación después de la alimentación. Estos parámetros permiten

establecer la importancia epidemiológica de las especies que tienen una alta tasa de infección y defecan en un periodo de tiempo más corto, tienen mayores probabilidades de transmitir al parásito.

### 3.6.1.1. Especies

Listado de los triatominos presentes en Norte de Santander- Colombia (Guhl et al., 2007)

- *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811)
- *Rhodnius prolixus* (Stål, 1859)
- *Rhodnius pallescens* (Barber, 1932)
- *Panstrongylus* sp.
- *Eratyrus* sp.
- *Belminus ferroae* (Sandoval et al., 2007)
- *Eratyrus mucronatus* (Stål, 1859)
- *Rhodnius pictipes* (Stål, 1872)
- *Rhodnius robustus* (Larrouse, 1927)
- *Rhodnius* sp.
- *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811)
- *Triatoma venosa* (Stål, 1872)

### 3.7. Ciclo de Vida

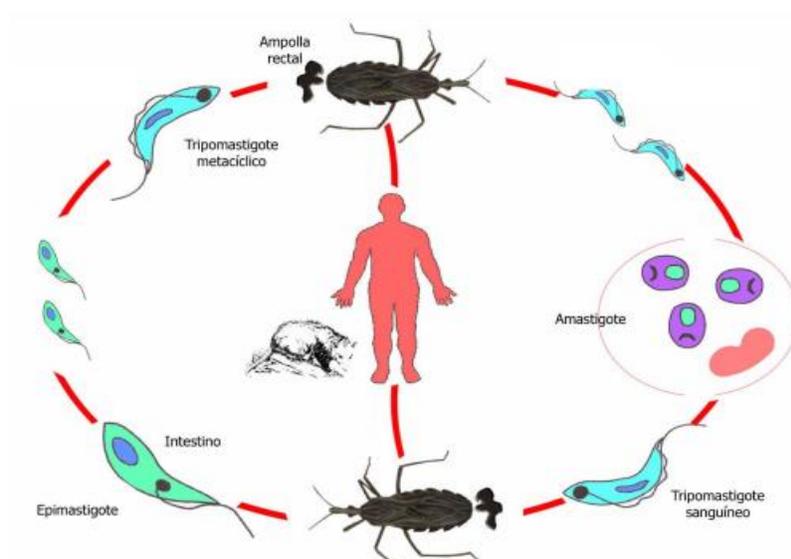
El parásito presenta su ciclo de vida en dos tipos de hospederos, vertebrado e invertebrado, de los cuales hace parte el hombre y aproximadamente 33 especies de pequeños mamíferos pertenecientes a seis órdenes los cuales son: Marsupialia, Chiroptera, Rodentia, Edentata, Carnívora y Primata (Coura, 2002). Los hospederos invertebrados abarcan 16 especies de

insectos hematófagos distribuidos en algunos géneros de la subfamilia Triatominae (orden: Hemiptera, familia: Reduviidae). Por lo cual el *T. cruzi* está circulando tanto en ambiente doméstico y peridomésticos como silvestre (Díaz & Gonzales, 2014).

El ciclo de vida de *T. cruzi* comienza cuando el vector triatomino ingiere tripomastigotes presentes en una comida de sangre de un huésped mamífero infectado. Las formas epimastigotes flageladas se multiplican en el tracto digestivo del intestino, posterior diferenciación en la forma infectiva, el tripomastigotes meta cíclico, el cual es depositado con las heces en el momento de la picadura del triatomino vector. Estas formas meta cíclicas tienen la capacidad de internarse *in vivo* en las células del huésped, dentro de las cuales se diferencian en su estadio no flagelado, el amastigote, las formas intracelulares amastigotas, tras varias rondas de replicación se diferencian en tripomastigotes, los cuales son liberados al torrente sanguíneo por ruptura de la célula infectada. El ciclo de *T. cruzi* se completa cuando el insecto vector ingiere durante su comida las formas tripomastigotas sanguíneas y estas se diferencian dentro del mismo en epimastigotes (WHO, 2002) (Figura 6).

**Figura 6.**

Ciclo de vida *Trypanosoma cruzi* (Pavía, 2004).



*Nota:* formas epimastigotas flageladas se multiplican en el tracto digestivo del intestino (Pavía, 2004).

Los triatominos suelen permanecer infectivo de por vida y pueden transmitir *Trypanosoma cruzi* por varios años.

### 3.7.1. Ciclo de Transmisión.

### 3.7.2. Ciclo Domestico.

La transmisión se presenta en lugares donde los triatominos se adaptan en las viviendas humanas, principalmente en zonas rurales o zonas periurbanas, en viviendas en mal estado, con paredes de bareque o adobe y techos de material vegetal. Los humanos junto con perros, gatos y animales peridomésticos cumplen un papel importante como fuente de alimento para los triatominos domiciliados, convirtiéndose en reservorios importantes de este ciclo (Díaz et al., 2007; WHO, 2015).

### 3.7.3. Ciclo Peridoméstico.

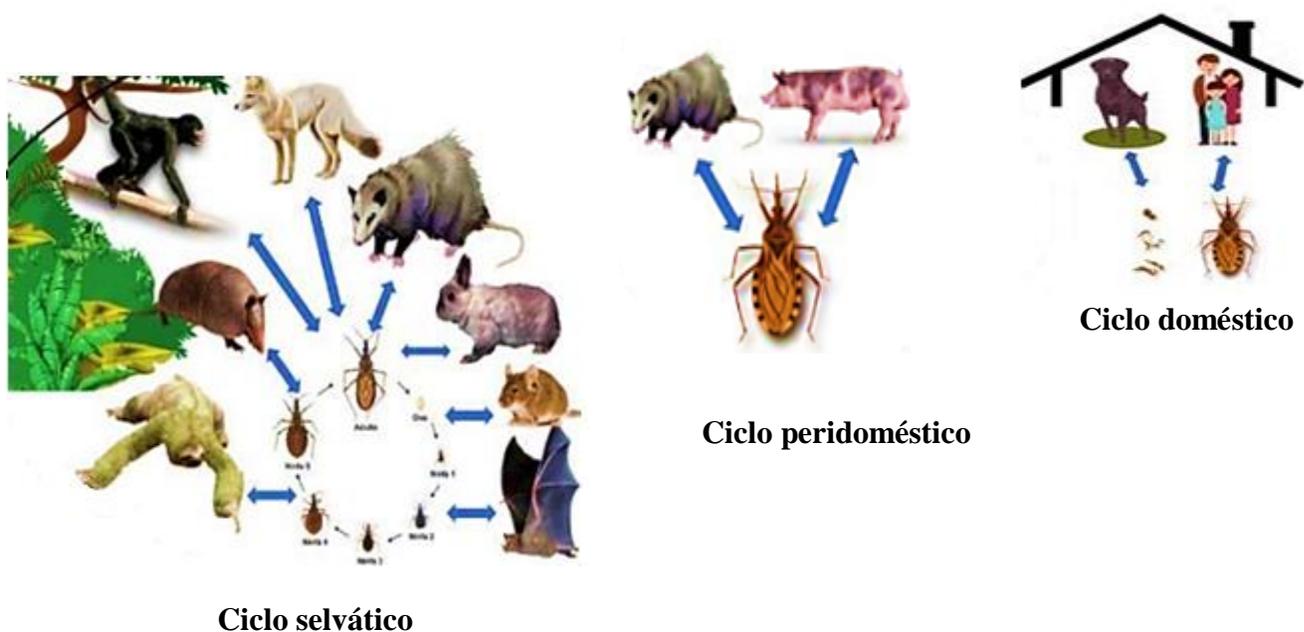
En este ciclo intervienen mamíferos tales como roedores, marsupiales, perros y triatomas selváticos atraídos a las casas por la luz y el alimento. Este ciclo sirve de intermediario entre el ciclo selvático y el doméstico (Díaz et al., 2007).

### 3.7.4. Ciclo Selvático.

Este involucra la interacción entre vectores silvestres y mamíferos selváticos incluyendo marsupiales, roedores, armadillos y otros animales (Díaz et al., 2007).

#### Figura 7.

Ciclo de transmisión de *Trypanosoma cruzi*.



*Nota:* se observan los tres ciclos epidemiológicos de la enfermedad de Chagas con algunos ejemplos de sus hospederos y vectores.

### **3.8. Biología**

#### **3.8.1. Ciclo de Vida del Triatominae**

El ciclo de vida de los triatomíneos se compone de etapas de huevo y de cinco estadios ninfales. Su desarrollo es a temperaturas entre 20°C y 30°C y lleva aproximadamente entre 5-6 meses en alcanzar la madurez sexual (*R. prolixus*, *Triatoma infestans*) y a más de 1 año en (*T. dimidiata*, *P. megistus*) (Dorn et al., 2011). Los cinco estadios sucesivos inmaduros se parecen cada vez más al adulto, y las alas rudimentarias son evidentes sólo los últimos estadios (Figura 6). Los miembros de la familia Triatominae son insectos hematófagos obligados en todas las fases de su crecimiento. Esto significa que los cinco estadios ninfales y de ambos sexos de los adultos se alimentan de la sangre de los vertebrados y son capaces de infectar y transmitir *T. cruzi*.

En general la mayoría de las especies son nocturnas, y durante el día permanecen en sus lugares de descanso, aunque a veces pueden salir a chupar sangre durante el día bajo condiciones adversas. En las colonias criadas en el laboratorio, los insectos buscan las fuentes de alimentos en plena luz del día.

#### **3.9. Caracterización del Área de Estudio**

El municipio de El Zulia presenta una altitud de 220 msnm, una extensión de 537 kms<sup>2</sup> y un clima con temperatura promedio de 30° C. La distancia a Cúcuta es de 12 Kms. Coordenadas geográficas: Longitud al oeste de Greenwich 72° 36', Latitud Norte 7° 56' Límites: Norte: Cúcuta, Sur: San Cayetano y Santiago, Oriente: Cúcuta, Occidente: Sardinata y Gramalote. División Administrativa: el municipio está compuesto por 2 corregimientos y 18 veredas (Pérez, 2010). El municipio cuenta con las siguientes fuentes hídricas: río Peralonso, San Miguel y El Zulia, las quebradas Carbonera, El mestizo, Mesonera, Contenta, Victoria, Alejandra. El

municipio administrativamente está adscrito a la región Oriental. La economía se basa en la producción agrícola como la caña de azúcar, café, arroz, maíz, yuca, cacao. Dentro de la producción pecuaria y minera se cuentan con explotaciones pescal, arcilla, calizas, carbón y arena (Pérez, 2010).

#### **4. Estado del Arte**

Aspectos relacionados con la situación y aspectos epidemiológicos generales de la enfermedad en Colombia. La distribución geográfica y la importancia epidemiológica en la transmisión de la enfermedad de Chagas en Colombia, se toma en base a los registros bibliográficos existentes en el país y las colecciones de referencia de la Universidad de los Andes, en este estudio se realizó un análisis de las condiciones ecológicas en las cuales han sido registrados triatomíneos en los países con fronteras con Colombia para poder establecer la presencia de posibles especies que aún no se han registrado en nuestro país (Guhl et al., 2007). De las 26 especies presentes en Colombia, 15 se han encontrado con infecciones naturales de tripanosomátidos identificados como *Trypanosoma cruzi* (Chagas 1909), (Guhl et al., 2007; Molina et al., 2000).

En un estudio sobre la actualización y la distribución geográfica y ecoepidemiología de la fauna de triatomíneos de la familia Reduviidae y subfamilia Triatominae en Colombia se reportó una nueva especie, descrita como *Belminus corredori*. Los ejemplares fueron capturados en una vivienda de buena calidad, ubicada en la vereda Puente Tierra en el municipio de San Gil, departamento de Santander. La región se caracteriza por la presencia de bosque montano seco a una altura de 1.810 metros sobre el nivel del mar. Con este nuevo registro se completan 26 especies de triatomíneos en Colombia (Guhl et al., 2007).

Respecto a la identificación de nuevos escenarios epidemiológicos para la enfermedad de Chagas en la región Momposina en la zona norte de Colombia Vásquez et al. (2013) encontraron que en la época seca hay mayor riesgo de infección con *T. cruzi*, teniendo en cuenta la gran densidad de población de insectos, el alto porcentaje de insectos alimentados y la alta tasa de infección. Con los resultados obtenidos se pudo concluir que existía un foco activo de transmisión de *T. cruzi* en la zona estudiada (Vásquez et al., 2013).

Métodos de recolección y captura de triatominos, en relación con los métodos de captura de triatominos en palmas de la especie *Attalea butyracea* (Mutis ex L.f.) en los Llanos Orientales de Colombia, Angulo et al. (2013), encontraron buenos resultados con la trampa descrita por Angulo y Esteban en el año 2011, para la detección de la infestación, número de triatominos recolectados, índices de hacinamiento, densidad, rango de abundancia e índice adulto/ninfa, por la mayor cantidad de adultos recolectados, situación que pudo estar relacionada con mayor capacidad de atracción y captura de esta trampa, en contraste con los métodos reportados por (Felicangeli et al., 2007).

Métodos de detección de *Trypanosoma cruzi* en los triatominos, Santamaría et al. (2007), mediante el diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas, encaminadas a detectar el parásito. En relación con este estudio realizado por Angulo et al. (2012), los altos grados de infestación y colonización de *A. butyracea* por *R. prolixus* en el peri-domicilio de las áreas rurales de municipios de Casanare y Arauca, confirman esta especie de palma como hábitat natural de *R. prolixus*. Los resultados de este estudio revelan una nueva situación epidemiológica de transmisión de la enfermedad de Chagas, caracterizada por las altas tasas de infestación de *R. prolixus* en palmas próximas a viviendas.

En Colombia Cantillo Barraza et al. (2010), llevaron a cabo un estudio para determinar la distribución de los vectores, seguida de la prevalencia de infección analizando muestras de materia fecal sometidas a observación directa en microscopio y posterior confirmación mediante PCR. La prevalencia de infección con *T. cruzi* obtenida en 41 ejemplares de *Triatoma maculata* capturados en intradomicilio fue entre 50 y 71,4%. Así mismo, se capturaron dos especímenes de *R. pallecens*, ambos positivos a la infección. Por otro lado, se capturaron 1111 triatominos de cuatro especies en ecotopos naturales (palmas) de los cuales 1000 se encontraban en estadios ninfales I, II y III, en su mayoría *R. pallecens*. Teniendo en cuenta que solo se encontraron infectados *R. pallecens* y *Eratyrus cuspidatus*. Se seleccionaron 26 muestras de todos los sitios de captura para confirmación por PCR, solo 3 muestras fueron negativas (Cantillo Barraza et al. 2010).

Estudio desarrollado en el caribe colombiano por Cantillo-Barraza et al. (2015), se incluyó la determinación de rangos de infección en 124 triatominos capturados en el peri-domicilio. Se empleó diagnóstico directo de flagelados mediante microscopia, detección molecular de *T. cruzi* a partir de heces y xenodiagnóstico en *R. prolixus*. La prevalencia de *T. cruzi* por PCR en *T. maculata* fue de 71,6% y de 50% para *R. pallecens* (Cantillo-Barraza et al. 2015).

Para la determinación de la infección por *T. cruzi*, Ayala Hoyos et al. (2019), llevaron a cabo la búsqueda de parásitos flagelados por medio de extendidos de la ampolla rectal de los insectos, mediante observación directa al microscopio y amplificación por PCR del ADN de *T. cruzi* presente en el contenido intestinal de los triatominos.

### **Hipótesis**

En los alrededores de la finca la ceiba, vereda la Macarena, municipio El Zulia, se encuentran triatominos del género *Rhodnius* sp., infectados con el parásito *Trypanosoma* spp.

## 5. Objetivos

### 5.1. Objetivo General

Determinar la infestación *Attalea butyracea* (palma de corozo) con vectores de la Enfermedad de Chagas e infección natural con *Trypanosoma* spp., en la vereda la Macarena, Municipio El Zulia, Departamento Norte de Santander-Colombia.

### 5.2. Objetivos Específicos

Identificar la infestación *Attalea butyracea* (palma de corozo) e infección natural con *Trypanosoma* spp., por medio de examen microscópico del contenido fecal de los triatominos recolectados.

Clasificar las características comunes que presentan las palmas de corozo (*Attalea butyracea*) con mayor presencia de triatominos.

Realizar extracción de ADN y amplificación por PCR de los ejemplares de triatominos capturados.

## 6. Métodos

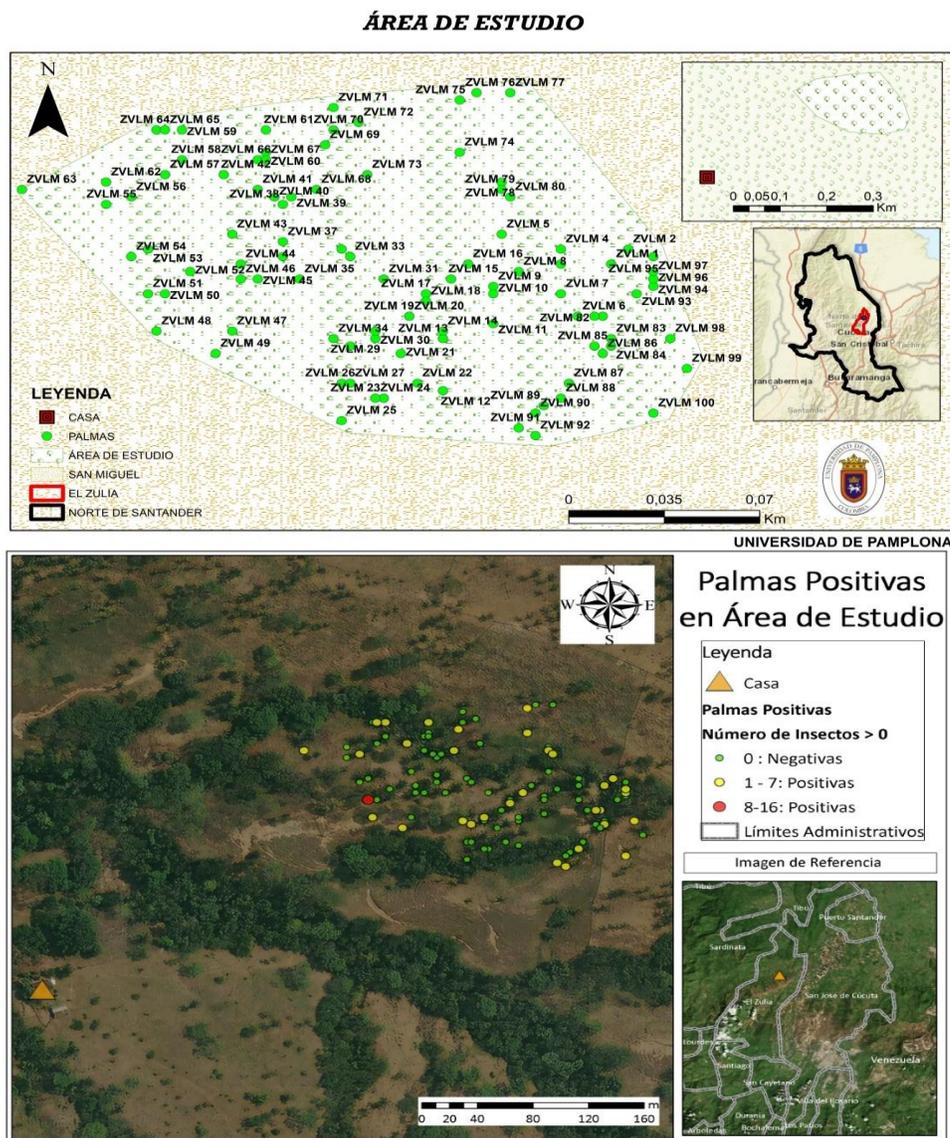
### 6.1. Área de Estudio

El proceso de muestreo se realizó entre agosto y septiembre de 2021, los estudios de campo se llevaron a cabo a 300 metros de la casa principal, donde predominan palmas de la especie *A. butyracea* que se ubican en la “finca la ceiba” vereda La Macarena vía El Zulia, la Ye de Astilleros- Sardinata municipio de El Zulia, departamento Norte de Santander, Colombia (08° 08' 38,0" Norte y 072° 37' 20,7" Oeste). En el área de estudio se observaron zonas con diferentes grados de perturbación. Los disturbios incluyeron principalmente terrenos despejados para la siembra de cultivos (maíz, yuca, entre otros) y terrenos urbanizados con fines comerciales (pastizales para el ganado doméstico). En este paisaje de pastizales se pueden observar fragmentos de bosques con palmeras de *Attalea butyracea*. En el interior y cerca, se observó fauna salvaje como murciélagos, primates, ardillas, zorro entre otros.

Cuenta con una población rural dispersa, donde se dedican a diferentes actividades económicas, agrícolas y de comercio.

Figura 8.

Ubicación geográfica del área de estudio en Colombia junto con los puntos de muestreo. Fuente: Ingrid Blanco, 2021.



*Nota:* A) Se muestra la ubicación de la finca Ceiba, vereda La Macarena, El Zulia, y los puntos representan cada una de las palmeras individuales muestreadas y su respectiva distribución espacial en el bosque. B) Se muestra el total de palmas positivas y negativas junto con el número de insectos recolectados. Fuente: Ingrid Blanco, 2021.

Esta zona tiene una temperatura media anual de  $24 \pm 33$  ° C y una precipitación media anual de 1.017 milímetros, con una marcada estacionalidad de régimen bimodal.

### **6.1.1. Selección de las Palmas a Muestrear**

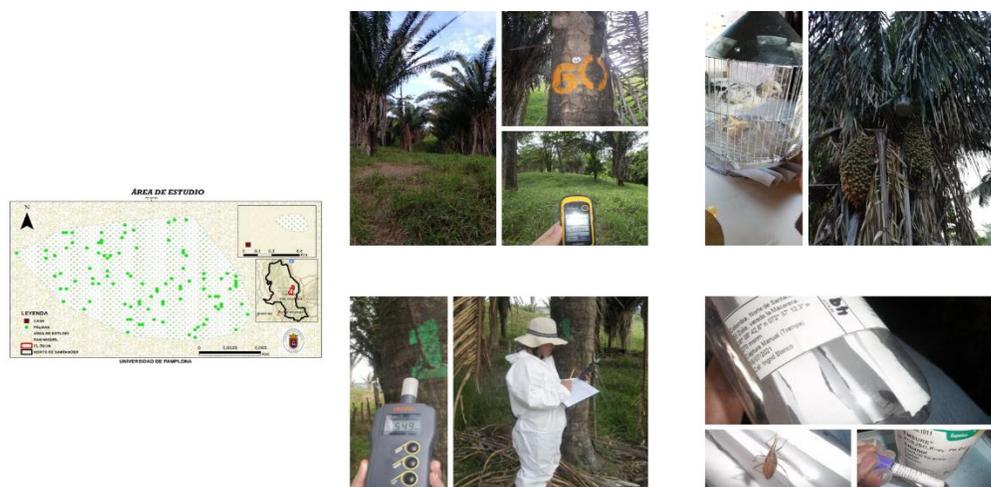
Para determinar la densidad de palmeras dentro del bosque se delimitó una parcela elegida al azar, se contaron individualmente todas las palmeras dentro de la parcela. Las palmeras fueron identificadas siguiendo criterios morfológicos establecidos por Galeano y Bernal (Galeano & Bernal, 2010) y confirmados con la ayuda del profesor Roberto Sánchez especialista de la Universidad de Pamplona, Norte de Santander-Colombia.

En el estudio se tomaron 100 palmeras (*A. butyracea*), donde se muestreó a un lado de la copa incluyendo tanto subadultos (individuos con el tallo cubierto por hojas viejas desde el nivel del suelo hasta la copa y sin evidencia de reproducción) como adultos (individuos con varias hojas, tallo visible y evidencia de reproducción) palmeras (Olivares et al., 2013).

Para establecer la planta a muestrear siguiendo la metodología propuesta por (Urbano et al., 2015), donde se delimitó el bosque de palmeras con un GPS (Garmin Etrex 10) y se les realizó el marcaje correspondiente; luego, se seleccionaron aleatoriamente 100 puntos de muestreo en todo el mapa, cubriendo toda el área de bosque. Utilizando la técnica del punto central y el vecino más cercano, se muestreó la palmera más cercana a cada uno de los puntos marcados con el GPS. Para cada planta muestreada, se registró el estado reproductivo (bráctea, inflorescencia y fruto).

## Figura 9.

Área de muestreo y diferente metodología desarrollada en campo. Fuente: Ingrid Blanco, 2021.



*Nota:* en la imagen se observa el área de estudio, las diferentes palmas que fueron muestreadas y marcadas, la trampa de cebo de gallina seguida de la toma de datos y finalmente la conservación de estos individuos. Fuente: Ingrid Blanco, 2021.

En todos los casos, las distancias euclidianas desde el borde del bosque hasta la palmera muestreada se determinaron utilizando el software ArcGis® 10.1, utilizando las coordenadas geográficas correspondientes.

### 6.1.2. Muestreo de Triatominos

El proceso de muestreo se llevó a cabo utilizando trampas de cebo de gallina (Angulo & Esteban, 2011). Se muestrearon 100 palmeras de *A. butyracea* con diferente fisonomía mediante la instalación de una trampa al lado de copa de palmera cada noche. En cada uno de estos sitios se instaló una trampa para triatominos durante varias noches consecutivas. Se midieron la temperatura y la humedad relativa de cada palmera con un Thermohygrometer (HANNA), también se determinaron tasas de infestación e infección natural.

En todos los casos, las trampas se instalaron de 6:00 pm a 6:00 am, y se retiraron después de las 6:00 horas, mediante una cuerda que se encontraba atada a las trampas. Los sitios de captura, fueron geo-referenciados, fotografiados e informados en una base de datos en Excel, tomando en cuenta parámetros del hábitat natural.

### **6.1.3. Colecta de Datos**

Los especímenes recolectados se registraron en una base de datos en Excel por palmeras individuales y por etapa de desarrollo, con ninfas del primer al quinto estadio (N1-N5) y adultos. Los datos de cada individuo (código de captura, coordenadas, temperatura, humedad, estadio, estado reproductivo) fueron registrados en el formato correspondiente y transportado en frascos debidamente etiquetados al laboratorio de biomédicas de la Universidad de Pamplona.

### **6.1.4. Identificación de las Especies de Palma y Taxonomía de los Triatominos**

Las palmeras se identificaron siguiendo lo establecido por Galeano y Bernal (Galeano & Bernal, 2010) de acuerdo a sus criterios morfológicos y confirmados por el profesor Roberto Sánchez especialista, identificada en Herbario Catatumbo Sarare (HECASA) de la Universidad de Pamplona, Norte de Santander-Colombia.

**Figura 10.**

Las palmeras se identificaron siguiendo lo establecido por Galeano y Bernal (Galeano & Bernal, 2010).



*Nota:* distribución de la palma *Attalea* en Colombia. Fuente: Ingrid Blanco, 2021.

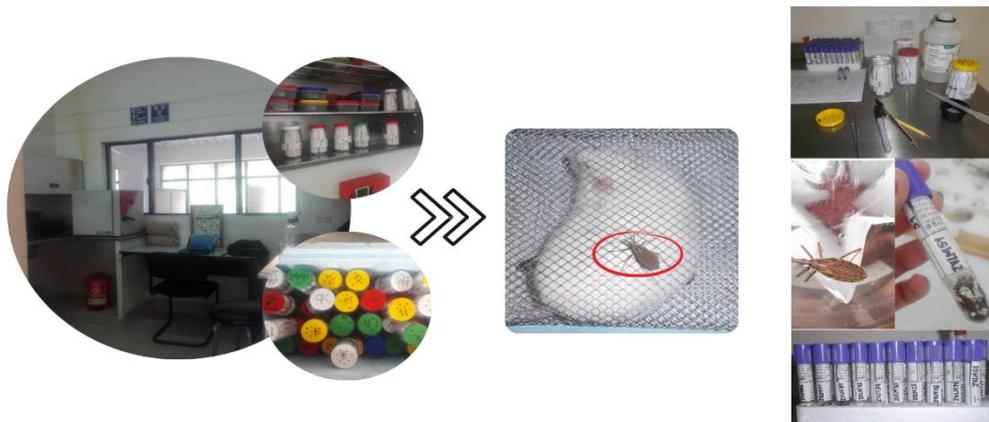
La identificación taxonómica de todos los individuos recolectados se realizó siguiendo los criterios morfológicos de las claves taxonómicas de Lent & Wygodzinsky (1979). Para el procesamiento de cada uno de los triatominos, se le asignó un número único de código (ZVLM), fueron fotografiados y clasificados morfológicamente, utilizando las claves taxonómicas propuestas por Lent & Wygodzinsky (1979).

### **6.1.5. Infestación de Triatominos**

Posteriormente los triatominos fueron recolectados, guardados y rotulados con su respectivo código (ZVLM) individualmente en tubos eppendorf con etanol absoluto (100%) para las respectivas pruebas moleculares empleadas para la detección de parásitos.

### Figura 11.

Conservación de los especímenes una vez recolectados en campo, fueron llevados al laboratorio de Biomédicas de la Universidad de Pamplona, en su campus principal.



*Nota:* para el almacenamiento se clasificaron los triatominos según la palma que le correspondía asignándole un código consecutivo ZVLM. Fuente: Ingrid Blanco, 2021.

## 6.2. Análisis de Infección

### 6.2.1.1. Examen Directo

Se procedió a realizar una incisión en el abdomen de extendidos de la ampolla rectal de los insectos, se depositó en una lámina porta objetos diluidas en una gota de solución salina (0.9%), fue cubierta con una laminilla y posteriormente fue observada al microscopio en 4x, 10x y 40x respectivamente; para determinar la presencia o ausencia de formas flageladas de *Trypanosoma* spp., generalmente se llevó a cabo en aquellos individuos que llegaron vivos al laboratorio.

### 6.2.1.2. Extracción de ADN

Para proceder con el análisis de infección a partir del contenido intestinal de cada triatomino, se extrajo el ADN utilizando el estuche comercial **PureLink Genomic DNA minikit® (Thermo**

**Fisher Scientific, Waltham, MA, USA**), se realizó observando los insectos por palma dependiendo de la abundancia, se extrajo el abdomen (intestino) de cada insecto por palma debidamente marcados, estos se maceraron en 200  $\mu$ L de solución salina (0.9%), posteriormente se adicionó 20 $\mu$ L tanto de proteinasa K (elimina a las proteínas) como de RNasa A (elimina todos los tipos de RNA) y se mezcló con vórtex para conseguir una mezcla homogénea. A continuación, se agregó 200 $\mu$ L de buffer Lisis/Binding, las muestras fueron lisadas en este buffer, el cual tiene la función de potenciar la acción de la proteinasa K y a su vez elimina la contaminación por proteínas y sales; se homogenizó de nuevo y en este orden se incubó a 55 C por 10 minutos para promover la digestión de las proteínas. Posteriormente, se mezcló por 5 segundos 200  $\mu$ L de etanol absoluto frio (mayor efectividad), el cual deshidrata al DNA, para quitarle las moléculas de agua que lo rodean, aumentando su pureza y lo precipita. Después, se tomaron 640  $\mu$ L del lisado en una columna de un tubo de contención (solo deja pasar el DNA, y el resto queda en el tubo de contención) y se centrifugó a 10000 rpm a temperatura ambiente por 1 minuto; se descartó el tubo de colección y se ubicó en uno limpio. Luego, se le añadieron 500  $\mu$ L de buffer de lavado 1 (diluye las sustancias y células presentes aún en la mezcla), se llevó a centrifugación a 10000 rpm por 1 minuto a temperatura ambiente; se descartó el tubo de colección y se le agregó 500  $\mu$ L de buffer de lavado 2 que se centrifugó a máxima velocidad por tres minutos. Para finalizar se colocó la columna en un tubo eppendorf de 1,5 rotulado, se adicionó 100  $\mu$ L de buffer de elución (mantiene el pH de la solución), se incubó a temperatura ambiente por un minuto y también se centrifugó por uno minuto para recuperar el DNA, finalmente se almacenó a -20 °C.

#### 6.2.1.3. *Extracción de Fenol-cloroformo*

A partir del contenido intestinal de cada triatominos, se extrajo el ADN se macero en 200  $\mu$ L de solución salina (0.9%), posteriormente se adicionó 20 $\mu$ L tanto de proteinasa K (elimina a las proteínas), se incubó a 55 C por 10 minutos para promover la digestión de las proteínas. A continuación, se agregó 400 $\mu$ L de fenol – cloroformo y se centrifugó a 10000 rpm a temperatura ambiente por 6 minutos; se tomó el sobrenadante y se agregó a un tubo eppendorf descartando el tubo. Luego, se le añadieron 400  $\mu$ L de cloroformo, se llevó a centrifugación a 10000 rpm por 6 minutos a temperatura ambiente; se tomó el sobrenadante y se agregó a un tubo eppendorf descartando el tubo. Se adiciono acetato de sodio (3M), seguidamente 400  $\mu$ L de etanol absoluto y se llevó a centrifugación a 10000 rpm por 6 minutos. Se descarta todo lo que contiene del tubo y se coloca boca abajo encima de una servilleta, posteriormente se adiciona 400  $\mu$ L de alcohol al 70%, se llevó a centrifugación a 10000 rpm por 6 minutos. Para finalizar se descartó todo el contenido y se adicionó 100  $\mu$ L de buffer de elución (mantiene el pH de la solución), finalmente se almacenó a -20 °C (Sambrook et al., 1989).

#### 6.2.1.4. *Determinación de la concentración de ADN*

Una vez extraído el ADN, se midió espectrofotométricamente la concentración y pureza mediante la relación de las medidas de absorbancia a 260/280 y 260/230, utilizando un equipo Nanodrop ND-2000 (Thermo Scientific).

#### 6.2.1.5. *Detección de T. cruzi en cada muestra mediante de PCR en tiempo real.*

Para confirmar la presencia del parásito, se realizó la prueba de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esta técnica se realizó con los triatominos de la vereda la Macarena, El Zulia

recolectados en palmas. A los triatominos se les realizó extracción de ADN y posteriormente, fueron procesados en el laboratorio de Biomédicas de la Universidad de Pamplona.

La carga parasitaria en cada muestra se determinó mediante la amplificación por PCR en tiempo real, utilizando cebadores específicos para *T. cruzi*. Cada tubo de amplificación contenía 25 µL de master mix (12,5 µL de Gotaq, 2,5 µL de primer, 2,5 µL primer 2, 2,5 µL agua ultrapura), 5 µL de muestra de ADN. Se utilizaron los mismos cebadores previamente descrito para la PCR T1 (5-AATAATGTTACGGG (T/G) GAGATGCATGA-3) y T2 (5 - GGTTTCGATTGGGGTTGGTGAATATA-3).

Las condiciones de PCR que se utilizaron fueron: 1 paso inicial de calentamiento de 5 minutos a 95°C, 33 ciclos que consistieron en: 30 segundos a 94°C (desnaturalización), 1 minuto a 66°C (alineamiento) y 1 minuto a 72°C (extensión); por ultimo un ciclo final de 7 minutos a 72°C, el termociclador utilizado fue Applied Biosystems. Los productos amplificados serán analizados por electroforesis en gel de agarosa al 2,5%, como marcador de tamaño se utilizó ADN ladder 100 pares de bases. Los geles se visualizaron en un transiluminador bajo luz ultravioleta (Botero et al., 2007).

Una vez realizada y terminada la PCR se realizará un análisis descriptivo a partir de los datos obtenidos de abundancia, infección natural y distribución espacial de los triatominos.

## **7. Resultados**

### **7.1. Georreferenciación a Partir de los Sitios de Captura de los Triatominos**

De acuerdo a la información obtenida a partir de los registros físicos, se pudieron establecer 100 sitios de captura en *A. butyracea*, que llevó a la captura de 64 triatominos del género *Rhodnius* sp., se capturaron más triatominos en aquellas palmas con mayor biomasa y frutos;

todos los triatominos fueron capturados en palmeras situadas en áreas silvestres (ecotopos naturales).

**Figura 12.**

(A-F) muestra algunos sitios de captura y registro de datos.



*Nota:* Sitios de captura. a) Geo-referencia de Palmeras (*Attalea butyracea*). b) Puesta de trampas tipo Angulo. c) Trampa en palmera con cebo de gallina (ver la parte superior de la palmera en el recuadro). d) Registro de Temperatura y humedad relativa. e) Se muestra un cuarto estadio pegado a la trampa, perteneciente al género *Rhodnius* sp. f) Almacenamiento del material recolectado debidamente marcado (área de estudio, coordenadas, altura, fecha de muestreo, colectora) de un cuarto estadio donde el género es *Rhodnius* sp. Fuente: Ingrid Blanco, 2021.

## 7.2. Identificación Taxonómica

La identificación taxonómica de todos los individuos recolectados se realizó siguiendo los criterios morfológicos de las claves taxonómicas de Lent & Wygodzinsky (1979).

Identificándose solo hasta género, dada la dificultad para definir el estado taxonómico de *Rhodnius* sp., debido a la similitud de las características morfológicas con otra especie.

### Figura 13.

Identificación taxonómica de los triatominos silvestres mediante el uso de la clave taxonómica Lent & Wygodzinsky (1979).



*Nota:* siguiendo las características morfológicas dichas por Lent & Wygodzinsky (1979), se logró identificar el género perteneciente a *Rhodnius* sp.

## 7.3. Muestreo de Triatominos

Por medio de la metodología utilizada basada en Angulo et al., 2011; Urbano et al., (2015), se logró la captura de 64 especímenes entre ellos el 98,4% (63/64) ninfas (N1-N5) y 1,6 (1/64)

adultos, donde el 20,3 % (13/64) de estos llegaron vivos al laboratorio, siendo mantenidos a temperaturas y humedad similar al área de estudio, algunos de ellos mudaron de ninfa IV a V, posteriormente dos de ellos se convirtieron en adultos (fuente de alimentación ratón) pertenecientes al género *Rhodnius* sp.

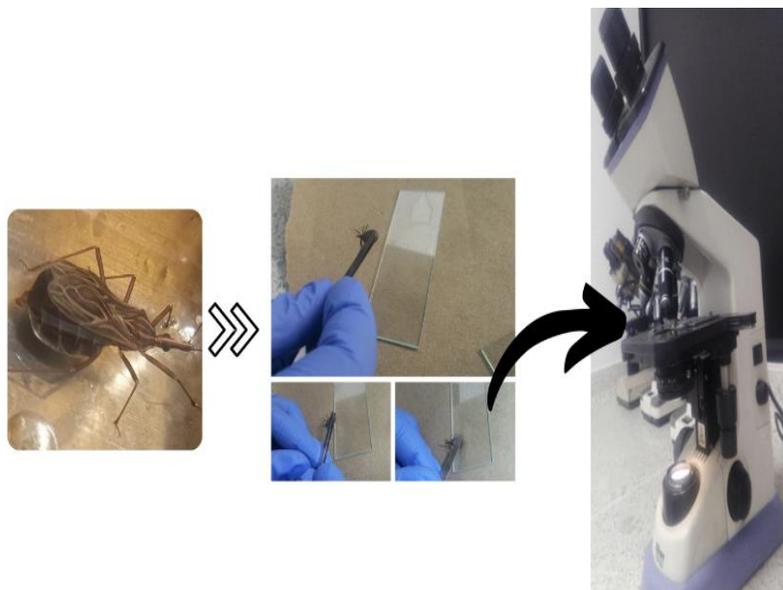
## 7.4. Análisis de Triatominos

### 7.4.1. Examen Directo

De las muestras analizadas por microscopía directa de las heces de 13 ejemplares vivos, para determinar la presencia del parásito se obtuvo que el 69,2% (9/13) no presenta *Trypanosoma* spp., y un 30,8 % (4/13) de estos insectos exhibieron una tasa de infección con presencia de *Trypanosoma* spp., como lo muestra la (Tabla 2).

#### Figura 14.

Observación microscópica para determinar la presencia de parásitos (400X).



*Nota:* una vez se obtuvieran las heces del triatominio se procedió agregarle una gota de NaCl, posteriormente se realizó la observación de *Trypanosoma* spp. Fuente: Ingrid Blanco, 2021.

Para calcular el índice de infección natural por *Trypanosoma* spp., y saber el porcentaje de triatomínicos positivos se llevó a cabo la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ de triatomínicos positivos}}{\text{N}^\circ \text{ de triatomínicos examinados}} \times 100$$

**Tabla 2.**

*Total, de triatomínicos que llegaron vivos y fueron observados por microscopía directa.*

Género	Total de especímenes	Total vivos	Examen directo	Positivos/negativos
<i>Rhodnius</i> sp.	64	13	13	4/9

*Nota:* Observación directa al microscopio, de las heces de los triatomínicos silvestres que llegaron vivos al laboratorio de biomédicas. Fuente: Ingrid Blanco, 2021

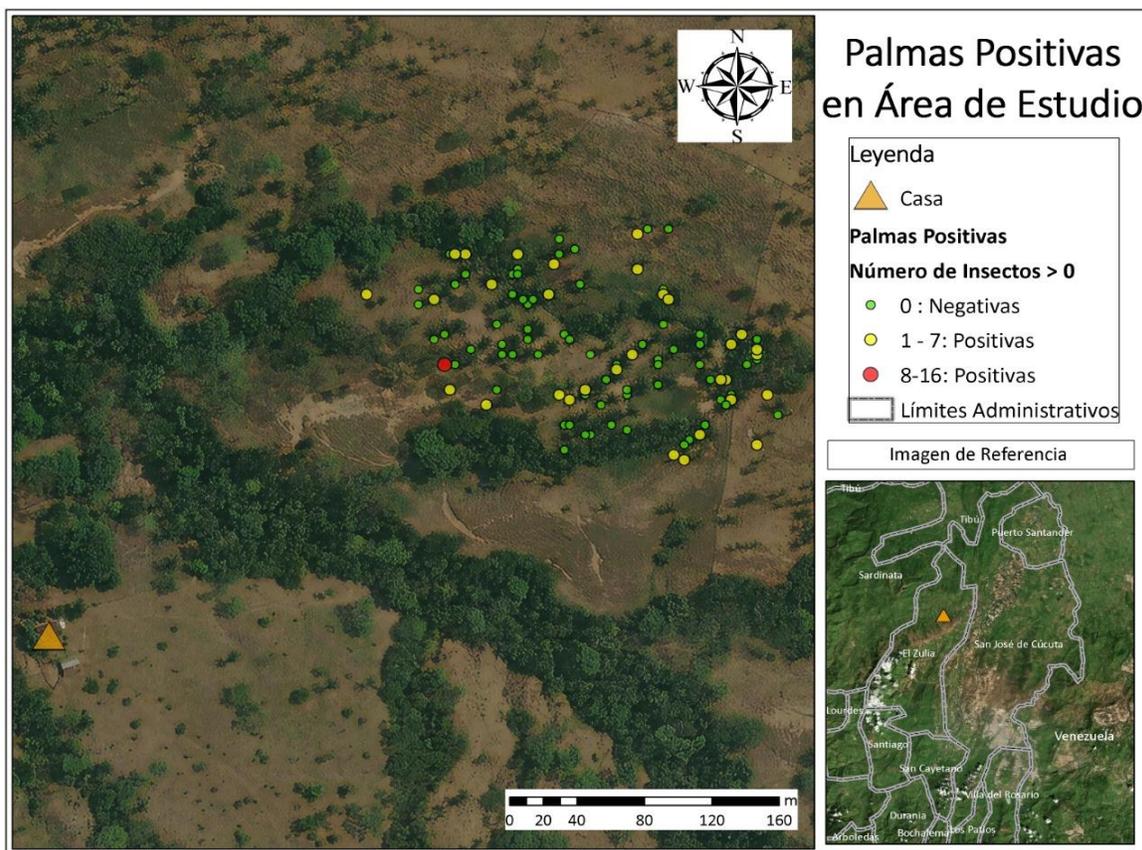
En total se colectaron 64 triatomínicos con abundancias entre 0 y 15 individuos por palma. La palma en la que se encontró mayor número de triatomínicos tuvo una abundancia de 15 individuos y la que presentó menor número de triatomínicos tuvo 1. Al observar las frecuencias de distribución de triatomínicos por palma, se puede observar que la mayoría de las palmas presentaban entre 1 y 7 triatomínicos con mayor frecuencia, siendo entre 1 y 3 el número más frecuente de triatomínicos encontrados por palma y los que presentaban mayor tasa infección (Tabla 2).

Para tener en cuenta el porcentaje del índice de infestación se utilizó la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ de palmas positivas}}{\text{N}^\circ \text{ total de palmas muestreadas}} \times 100$$

**Figura 15.**

Mapa de infestación de triatominos en las palmas muestreadas *A. butyracea*. Fuente: Ingrid Blanco, 2021.



*Nota:* el siguiente mapa representa cada una de las palmas muestreadas y su tasa de infestación, tanto positivas como negativas para la presencia de *Rhodnius* sp. Fuente: Ingrid Blanco, 2021.

La infestación (Tabla 3), se representa la presencia de triatominos en las palmas muestreadas fue del 31% (31/100) (índice de infestación) (Figura 12), adicionalmente se encontraron todos los estadios ninfales (1-5) al igual que adultos en algunas palmas.

**Tabla 3.**

*Índice de infestación y número de adultos/ninfas de Rhodnius sp.*

Muestreo	Sitio muestreado en la corona	Número de palmeras muestreadas	Número de palmeras infestadas (%)	Número de adultos/ninfas recolectadas
<i>A. butyracea</i>	Lado de la corona	100	31 (31%)	3/61

*Nota:* total de palmas muestreadas junto con el número de infestación. Fuente: Ingrid Blanco, 2021.

Se capturaron en total 64 triatomos selváticos de los diferentes estadios: 1,56 % (1/64) ninfa I, 23.4% (15/64) ninfa II, 45.31% (29/64) ninfa III, 14.06% (9/64) ninfa IV, 10.94% (7/64) ninfa V y 4,69% (3/64) adulto. De los individuos capturados se disectaron 60 insectos (adultos y ninfas) para la toma de muestras de heces y contenido intestinal del abdomen.

**Tabla 4.**

*Número de Rhodnius sp., recolectados según el estado de desarrollo.*

Muestreo (número de palmas muestreadas)	Estadios de desarrollo (instar)						Total
	N1	N2	N3	N4	N5	Adulto	
100	1	15	29	9	7	3	64

*Nota:* se muestra la frecuencia de ejemplares de los cinco estadios ninfales: N1, N2, N3, N4 y N5, y los adultos. Fuente. Ingrid Blanco, 2021.

### 7.5. Caracterización de las Palmas

El estudio de los vectores de la enfermedad de Chagas en ambientes silvestres permite entender los factores ambientales que influyen en su proceso de domiciliación (Salazar 2003). De esta forma, se sabe que las palmas tienen un vínculo fuerte con el desarrollo de estos vectores, al ser un ecotopo óptimo por los diferentes microhábitats que ofrece (Urbano et al., 2015). Es así, que las características fisiológicas de las palmas han sido fuertemente discutidas como

determinantes en la abundancia de los triatomos en las mismas (Urbano et al., 2015, Días et al., 2011), muchas de ellas han estado fuertemente relacionadas a la abundancia de vertebrados; algunas de estas características han sido el estado reproductivo de la palma, puesto que dependiendo de esto, los vertebrados encontraran o no una fuente de alimento, esto dependiendo del periodo de producción del fruto de la palma, generando así un aumento en la infección por parte de los triatomos siempre y cuando el vertebrado no sea refractario.

Como resultado del trabajo de campo realizado en la vereda la Macarena, se determinó una tasa de infestación del 31% y una tasa de infección de los triatomos observados por microscopia directa 6,25 % (4/64) mientras que por PCR, se obtuvo que el 40% (25/62) de los especímenes llevados a amplificación presentaron *Trypanosoma cruzi*, sin embargo, el 60% (37/63) fueron negativos para la no presencia de este parásito. Finalmente, el número de palmas en las que se realizó el muestreo fue bajo, por lo cual se debe tener en cuenta un grupo de datos más grande expresado en un mayor número de palmas muestreadas, con el fin de realizar análisis estadísticos más robustos y corroborar la tendencia obtenida en el presente estudio.

## **7.6. Factores**

Se permitió identificar algunos factores de riesgo asociados con alta y baja infestación de triatomos en áreas selváticas. Se sabe que variables ambientales como la temperatura, la humedad relativa y la altitud influyen en la distribución de triatomos.

**Tabla 5.**

*Promedios de Temperatura (°C) y humedad relativa (%) en palmas de A. butyracea.*

<b>Días de muestreo</b>	<b>T °C Tarde</b>	<b>T °C Mañana</b>	<b>%H Tarde</b>	<b>%H Mañana</b>
<b>Día 1</b>	31,15	23,61	64,37	85,68
<b>Día 2</b>	30,55	26,40	62,12	71,99
<b>Día 3</b>	29,03	25,09	65,36	68,88
<b>Día 4</b>	27,29	26,95	75,77	72,55
<b>Día 5</b>	27,67	25,68	74,68	87,81
<b>Día 6</b>	29,19	24,21	63,71	85,41
<b>Día 7</b>	28,99	26,15	64,95	72,97
<b>Día 8</b>	33,11	26,92	59,42	80,66
<b>Día 9</b>	32,16	26,91	62,62	76,03
<b>Día 10</b>	29,77	27,24	65,38	75,91

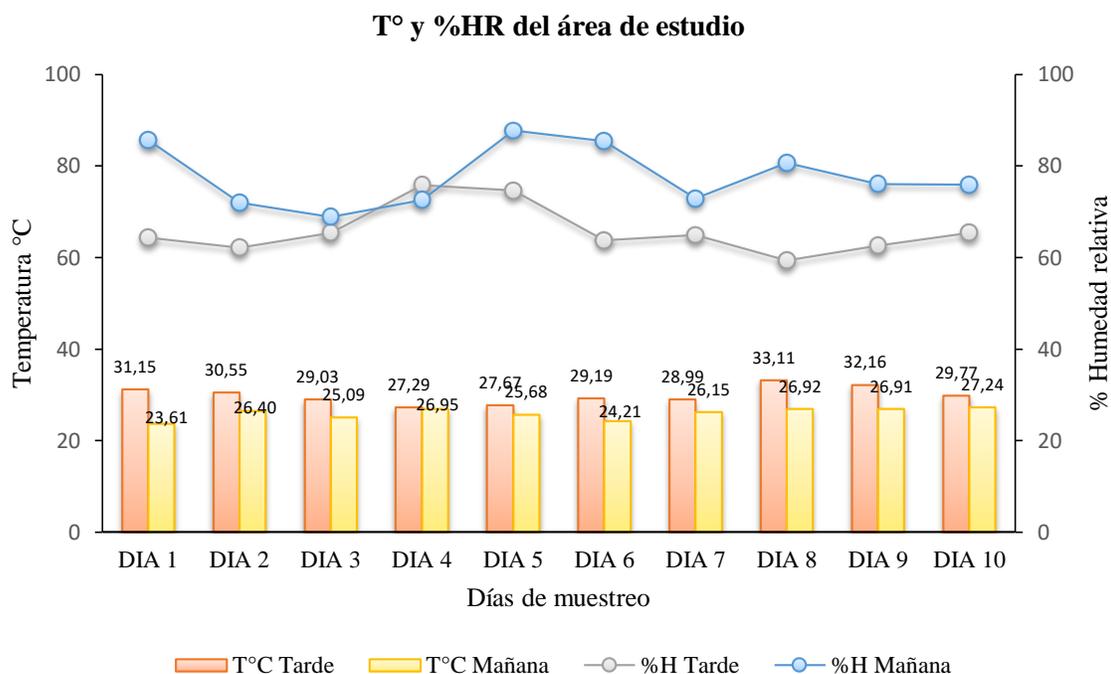
*Nota:* promedio de temperatura y humedad relativa de cada una de las palmas muestreadas por día.

Fuente: Ingrid Blanco, 2021.

Analizando los promedios obtenidos (26 °C – 33°C) en cada uno de días de muestreo de las temperaturas y % de humedad relativa, es importante tener en cuenta estos datos para el desarrollo de *Rhodnius* sp., en su ciclo de vida, ya que tanto la temperatura y humedad juegan un papel importante en la reproducción de triatominos.

**Figura 16.**

Representación gráfica de las diferentes temperaturas y humedades de las palmas *A. butyracea*. Fuente: Ingrid Blanco, 2021.



*Nota:* análisis estadísticos de promedios de temperatura y % humedad relativa. Fuente: Ingrid Blanco, 2021.

Sin embargo, al calcular los índices de infestación por palma se observaron diferencias en cuanto al bajo índice de triatominos colectados, según un estudio realizado por Tamayo et al., (2015) observaron que la variación en la cantidad de días que los insectos se demoraban en pasar de un estadio al otro puede deberse en gran medida a las diferencias en la alimentación. Aunque no se tomaron datos exactos de número de veces y cada cuanto se alimentaban los insectos, se observó que aquellos que pasaban periodos de 15 días sin alimentarse se demoraban más en pasar de estadio, que aquellos que se alimentaban cada 8 días. Esto concuerda con lo dicho por Buxton en su estudio (1930) de *R. prolixus* una sola alimentación es suficiente para una ecdisis,

sin embargo, cuando los insectos no ingieren la sangre suficiente para mudar durante una alimentación, requieren más comida y se demoran más tiempo en mudar. La temperatura óptima para el desarrollo de estos insectos vectores oscila entre (25-28°C), teniendo en cuenta la temperatura promedio del lugar de colecta donde se capturaron más individuos, sin embargo, los insectos fueron colectados en las axilas de las palmas de *Attalea butyracea*, donde la temperatura es notablemente menor. Por esta razón, el bajo índice de infestación obtenido en las palmas muestreadas se puede deber en gran medida a los altos grados de temperatura entre 30°C y 33°C, esto pudo haber generado mayor estrés en los insectos, afectado su fertilidad, la fecundidad y la mortalidad de los mismos. Con respecto a esta última, tanto en 28°C como en 30°C se observó que había un mayor porcentaje de mortalidad en el estadio ninfa 1. Este mismo patrón se ha observado anteriormente en *Rhodnius* sp., y en otros triatominos.

### **7.7. Análisis de Infección**

De las 31 palmas infestadas, el 6,25 (4/64) tuvieron triatominos infectados con *Trypanosoma* spp., teniendo en cuenta que estos fueron los observados por microscopia directa. La infección fue establecida por medio de la identificación de la presencia en triatominos que llegaron vivos al laboratorio. Posteriormente se realizó PCR para confirmar el índice de infección natural de los individuos capturados, junto con los individuos encontrados cerca de la luz.

### **7.8. Extracción ADN**

La extracción de ADN, se llevó a cabo en 60 muestras de triatominos encontrados en 31 palmas, llevando a cabo dos procesos de extracción (PureLink Genomic DNA; fenol: cloroformo).

**Figura 17.**

Extracción de ADN para cada uno de los especímenes recolectados. Fuente: Ingrid Blanco, 2021.



*Nota:* extracción de ADN a partir del abdomen (intestino) de cada insecto por palmas debidamente rotuladas. Fuente: Ingrid Blanco, 2021.

**7.8.1. Determinación de la Concentración de ADN**

Utilizando un equipo Nanodrop ND-2000 (Thermo Scientific), se midieron las diferentes concentraciones y pureza de ADN obtenido de la extracción, mediante la relación de las medidas de absorbancia a 260/280 y 260/230, obteniendo en algunas muestras gran cantidad de ADN y en otra menor cantidad, debido a que el estado de algunos insectos que se encontraban sin alimentar influye en la obtención de ADN, estos datos son de gran importancia para llevar a cabo la PCR.

**Figura 18.**

Nanodrop ND-2000, utilizado para medir la cantidad de ADN (0,5  $\mu$ L).



*Nota:* el espectrofotómetro sirve para medida rápida de pureza de DNA, RNA y proteínas con micromuestra. Su muestra siempre queda dentro de rango de concentración porque Nanodrop mide su muestra siempre a dos pasos ópticos, y se queda con el resultado de la medida más fiable. Fuente: Ingrid Blanco, 2021.

### **7.9.Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)**

Según el protocolo establecido y en base a los resultados, se procesaron 62 muestras obtenidas de contenido intestinal de triatominos. La PCR fue positiva en algunos individuos que se encontraron en palmas que presentaban características como frutos, biomasa entre otros; resaltando que el 40% (25/62) de los analizados presentó el parásito *Trypanosoma cruzi*, mientras que un 60% (37/62) no hubo presencia de este.

**Tabla 6.**

*Triatominos que fueron observados por PCR.*

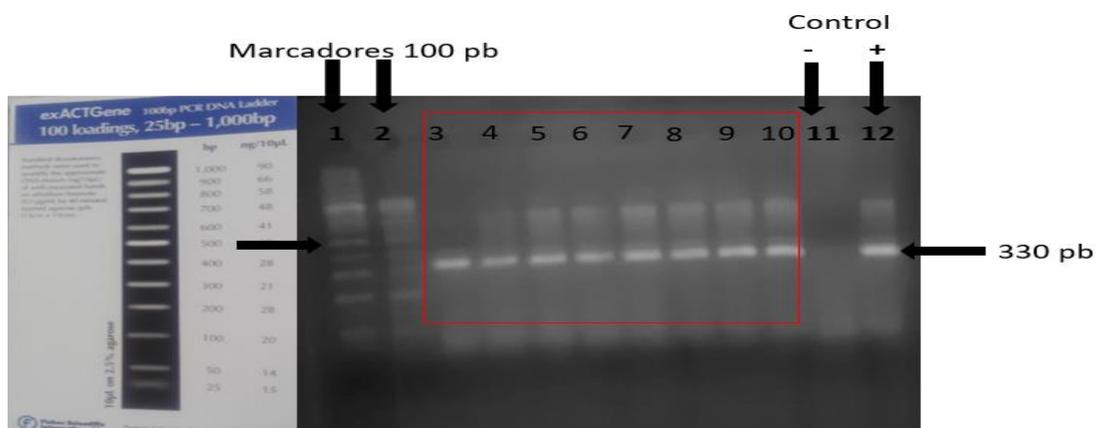
A. POZO	CÓDIGO	GÉNERO	PCR
3	ZVLM 18	<i>Rhodnius</i> sp.	+
4	ZVLM 01	<i>Rhodnius</i> sp.	+
5	ZVLM 49A	<i>Rhodnius</i> sp.	+
6	ZVLM 49B	<i>Rhodnius</i> sp.	+
7	ZVLM 49C	<i>Rhodnius</i> sp.	+
8	ZVLM 49D	<i>Rhodnius</i> sp.	+
9	ZVLM 49E	<i>Rhodnius</i> sp.	+
10	ZVLM 42	<i>Rhodnius</i> sp.	+
<b>B.</b>			
2	ZVLM 56A	<i>Rhodnius</i> sp.	+
4	ZVLM 74	<i>Rhodnius</i> sp.	+
5	ZVLM 51 D	<i>Rhodnius</i> sp.	+
7	ZVLM 51 E	<i>Rhodnius</i> sp.	+
9	ZVLM 80	<i>Rhodnius</i> sp.	+
11	ZVLM 63 B	<i>Rhodnius</i> sp.	+
16	ZVLM 65A	<i>Rhodnius</i> sp.	+
28	ZVLM 68A	<i>Rhodnius</i> sp.	+
31	ZVLM 28 A	<i>Rhodnius</i> sp.	+
37	ZVLM 81A	<i>Rhodnius</i> sp.	+
38	ZVLM 28 B	<i>Rhodnius</i> sp.	+
43	ZVLM 68B	<i>Rhodnius</i> sp.	+
45	ZVLM 69 A	<i>Rhodnius</i> sp.	+
47	ZVLM 30	<i>Rhodnius</i> sp.	+
48	ZVLM 34	<i>Rhodnius</i> sp.	+
53	ZVLM 56B	<i>Rhodnius</i> sp.	+

*Nota:* número de cada carril y muestras de ADN con cada uno de los resultados obtenidos en la PCR.

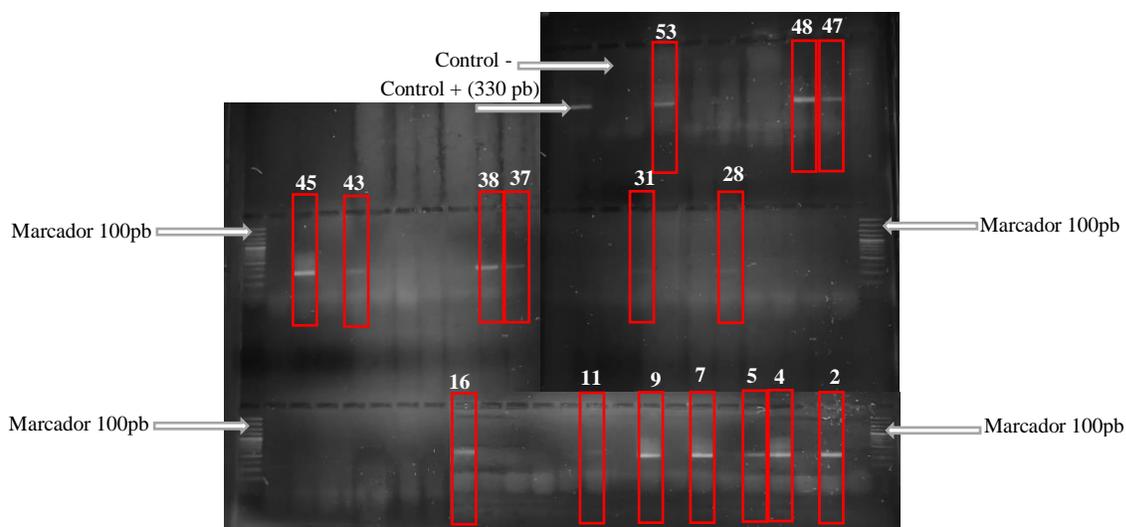
El control negativo, agua no evidencio amplificación para *T. cruzi*, por otra parte, el control positivo que correspondía a ADN de triatomino (ZVLM 49F) con enfermedad de Chagas.

### Figura 19. (A y B)

**A.** Detección de *T. cruzi* por PCR en *Rhodnius* sp. Carril 1 y 2: marcador DNA ladder 100 pb. Carriles 3-10 *T. cruzi* de triatominos de la vereda la macarena. Carril 11: control negativo. Carril 12: control positivo. Geles de agarosa al 2,5 % en TBE.



**B.** Detección de *T. cruzi* por PCR en *Rhodnius* sp. Carril 1-24-25-45-47: marcador DNA ladder 100 pb. Carriles 2-4-5-7-9-11-16-28-31-37-38-43-45-47-48-53. *T. cruzi* de triatominos de la vereda la macarena. Carril 55: control negativo. Carril 56: control positivo.



*Nota:* resultados amplificación por PCR a partir de extracción de ADN contenido intestinal.

## 8. Discusión

El estudio de los vectores de la enfermedad de Chagas en ambientes silvestres permite entender los factores ambientales que influyen en su proceso de domiciliación y desarrollo. De esta forma, se sabe que las palmas tienen un vínculo fuerte con el desarrollo de estos vectores, al ser un ecotopo óptimo por los diferentes microhábitats que ofrece (Urbano et al., 2015). Dentro de la metodología, la implementación de trampas con cebo de gallina favoreció la captura de triatomínicos en diferentes etapas de desarrollo como se ha demostrado en anteriores estudios (Angulo et al., 2011). Algunas de las palmas analizadas presentaron triatomínicos en diferente estadio ninfal, siendo el estadio II recolectado en mayor abundancia con un 45.31% (29/64), lo cual indica que hay un establecimiento del vector en esta especie de palma y por lo tanto en la zona de estudio. Respecto a la infestación, investigaciones anteriores han demostrado que *Rhodnius* sp., presenta una preferencia por las palmas del género *Attalea* (Urbano et al., 2015; Benítez. 2017), principalmente debido a sus características morfológicas como la corona y la altura (Galeano & Bernal, 2010).

De esta forma puede considerarse que *A. butyracea* es una especie con un mayor porcentaje de infestación y abundancia de triatomínicos, afirmando la preferencia de *Rhodnius* sp., por especies de palmas como se mencionado en el párrafo anterior. De igual manera es importante entender cuáles son las características y porqué estos vectores se encuentran de forma abundante en *Attalea*. Cabe resaltar que este tipo de palmas generan y/o permiten el desarrollo de ecotopos naturales para los triatomínicos, debido a que a lo largo del año acumula gran cantidad de biomasa, generando ambientes propicios para la reproducción del insecto (Urbano et al., 2015). De igual forma, la dispersión de los triatomínicos puede estar relacionada con el estado nutricional de los insectos durante la época seca, en la cual se reducen sus fuentes alimenticias silvestres y en

consecuencia los triatominos adultos migran hacia ecotopos artificiales en búsqueda de nuevas alternativas de ingesta de sangre, lo que a su vez facilita el contacto con el hombre e implica un mayor riesgo de transmisión oral por contaminación fecal directamente en la piel o mucosas y en los alimentos (Hernández et al., 2010; Vásquez et al., 2013; Reyes et al., 2017).

La presente investigación permitió identificar algunos factores de riesgo asociados con la infestación de triatominos en áreas selváticas 31% (31/100). Se sabe que variables ambientales como la temperatura, la humedad relativa optima que oscila entre (25°C-28°C), influyen en la distribución de triatominos, pero no son los principales determinantes de la distribución del microhábitats del insecto. Además, esta especie de palma es visitada por diversos animales como aves, roedores, entre otros, mamíferos que se encargan de esparcir las semillas, lo que le permite dispersarse y generar grupos de palmas, aumentando la disponibilidad de ecotopos esenciales para el desarrollo del vector de la enfermedad de Chagas.

Al tener palmas próximas a las viviendas de los residentes de la zona, los triatominos tienen acceso a fuentes sanguíneas de alimentación como humanos, ganado, animales domésticos, permitiendo el desarrollo de los vectores. En términos de etapas de desarrollo, las ninfas tienen una dispersión restringida a nuevos sitios, mientras que los adultos tienen una alta capacidad de dispersión. Aun así, la abundancia de estos vectores en este estudio es baja, debido a la época del año, épocas de reproducción que disminuye la población de insectos durante ese periodo de tiempo, esto si se compara con otros estudios de las especies *Attalea*. Por tanto, se puede inferir que la palma estudiada brinda condiciones, microambientes y fuentes de alimentación oportunas para el establecimiento de *Rhodnius* sp.

Respecto a la infección, los porcentajes presentados por *A. butyracea* fueron bajos 6,25% (4/64) en observación directa, mientras que en el análisis por PCR se obtuvo que un 40% (25/62)

de las muestras analizadas fueron positivas para la presencia de *Trypanosoma cruzi*. Esto puede deberse a la selección aleatoria de puntos, la lluvia durante los días de muestreo, temperatura y humedad relativa no óptimos para el desarrollo del ciclo de vida de triatominos, la no presencia de frutos, entre otros, factores que influyen en la tasa de recolección. Además, los triatominos son conocidos por su movilidad relativamente baja, especialmente en poblaciones bien alimentadas. Considerando que las etapas de desarrollo muestran diferentes rangos de tolerancia tanto a las condiciones ambientales como alimentarias, la variación de su presencia según los sitios muestreados en la palmera también podría estar influenciada por la variación de la temperatura y humedad relativa medidas en la palmera muestreada.

Un estudio realizado por Jácome et al. (2015) demostró que insectos selváticos (*Rhodnius* sp.) de ambos sexos pueden iniciar el vuelo en respuesta a estímulos de luz blanca, incluso a 110 metros de distancia. Factores como lluvias fuertes durante el día o antes del atardecer, temperaturas por debajo de los 20°C o fuertes corrientes de aire en las primeras horas después del anochecer pueden afectar negativamente el vuelo de los triatominos. Posteriormente, se tiene en cuenta la dispersión de vectores entre hábitats selváticos y domésticos ya que puede ocurrir de forma activa cuando los insectos son atraídos a las casas por la luz, y de forma pasiva teniendo en cuenta que en algunos casos las hojas de palma son utilizadas para construir los techos de las viviendas rurales en áreas endémicas creando posibles focos de infección (Guhl et al., 2009).

Finalmente, es importante resaltar que, en cuanto a la infección natural, por microscopía se visualizaron parásitos flagelados en extendidos de la ampolla rectal de 4 triatominos (6,25 %) y por PCR se detectó ADN de *T. cruzi* en el contenido intestinal de 25 insectos (40 %), incluidas las muestras positivas por observación directa. Teniendo en cuenta, estudios anteriores para el 4 de octubre de 2019, en Colombia 66 municipios fueron certificados internacionalmente por

interrumpir la transmisión vectorial de *T. cruzi* por *R. prolixus* intradoméstico, siendo uno de los municipios El Zulia en ser certificado en Norte de Santander, entre otros (OPS/OMS, 2019). Esto quiere decir que a pesar del bajo porcentaje de *Trypanosoma cruzi*, se presenta un evidente riesgo para la población por palmas próximas a las viviendas, la frecuencia con que habita y se adapta a las viviendas en épocas óptimas de reproducción del vector se puede aumentar el porcentaje de transmisión.

## 9. Conclusiones

- Se determinó la infección por *Trypanosoma* spp., en estadios ninfales de *Rhodnius* sp., mediante el uso del examen directo.
- La presente investigación arrojó que del total de triatominos capturados la tasa de infección fue de 6,25% (4/64) por examen directo y con un 31% (31/100) de infestación.
- Dentro de la población de triatominos se confirmó la presencia de *Trypanosoma cruzi* en el 40% (25/62) de los individuos capturados.
- Las palmas *A. butyracea* brindan un ecotopo apropiado para el desarrollo de los vectores favoreciendo la proliferación del parásito en la vereda la Macarena, generando un riesgo de transmisión a la población presente en esa comunidad.

## 10. Recomendaciones

Se sugiere para posteriores investigaciones, aumentar el área de estudio, el número de especies de palmas y el tiempo de muestreo. Además, realizar un análisis de los mamíferos que pueden encontrarse en cada especie de palma y de esta forma, podrían evidenciarse las posibles relaciones o preferencias que pueden tener los vectores de la enfermedad de Chagas.

## 11. Referencias Bibliográficas

Abad-Franch F, Monteiro MA, Jaramillo NO, Gurgel-Gonçalves R, Braga FSD, Diotaiuti L. Ecología, evolución y vigilancia a largo plazo de la enfermedad de Chagas transmitida por vectores: una evaluación a múltiples escalas de la tribu Rhodniini (Triatominae). *Acta Trop.* 2009; 110: 159–77.

Abad-Franch, F., Palomeque, F. S., Aguilar, H. M., 5th, & Miles, M. A. (2005). Field ecology of sylvatic *Rhodnius* populations (Heteroptera, Triatominae): risk factors for palm tree infestation in western Ecuador: *Rhodnius* and palm trees in Ecuador. *Tropical Medicine & International Health: TM & IH*, 10(12), 1258–1266.

Angulo, V. M., & Esteban, L. (2011). Nueva trampa para la captura de triatominos en hábitats silvestres y peridomésticos. *Biomedica: Revista Del Instituto Nacional de Salud*, 31(2), 264.

Angulo, V. M., Esteban, L., & Luna, K. P. (2012). *Attalea butyracea* próximas a las viviendas como posible fuente de infestación domiciliaria por *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) en los Llanos Orientales de Colombia. *Biomedica: Revista Del Instituto Nacional de Salud*, 32(2). <https://doi.org/10.7705/biomedica.v32i2.430>

Angulo, V. M., Esteban, L., Urbano, P., Hincapié, E., & Núñez, L. A. (2013). Comparación de métodos para la captura de triatominos (Hemiptera: Reduviidae) en palmas *Attalea butyracea* en los Llanos Orientales de Colombia. *Biomedica: Revista Del Instituto Nacional de Salud*, 33(4). <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i4.835>

Ayala Hoyos, C. J., Hernández Mendoza, C. M., Eyes Escalante, M., Romero Ricardo, L. R., Alvarez Rodriguez, R. A., & Blanco Tuirán, P. (2019). Detección de infección natural

por *Trypanosoma cruzi* (Trypanosomatidae) en triatominos del municipio de Colosó, Colombia. *Acta Biologica Colombiana*, 24(1), 180–184.

Barrett TV. Avances en la ecología de las chinches triatominos en relación con la enfermedad de Chagas. *Adv Dis Vector Res.* 1991; 8: 143–76.

Benitez Bolivar, P. A. (2017). *Evidencia de la infestación por triatominos en diferentes especies de palmas nativas e introducidas en una localidad de Tauramena, Casanare.*  
<https://repositorio.uniandes.edu.co/handle/1992/15148>

Botero, L. A., Mejía, A. M., & Triana, O. (2007). Caracterización biológica y genética de dos clones pertenecientes a los grupos I y II de *Trypanosoma cruzi* de Colombia. *Biomedica: Revista Del Instituto Nacional de Salud*, 27(1esp), 64.

Buxton, P.A. (1930). Biology of the blood-sucking bug, *Rhodnius prolixus*. *Trans Ent Soc London* 78: 227-236 DOI: 10.1111/j.1365-2311.1930.tb00385.x

Cantillo-Barraza, O., Garcés, E., Gómez-Palacio, A. *et al.* Eco-epidemiological study of an endemic Chagas disease region in northern Colombia reveals the importance of *Triatoma maculata* (Hemiptera: Reduviidae), dogs and *Didelphis marsupialis* in *Trypanosoma cruzi* maintenance. *Parasites Vectors* **8**, 482 (2015). <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1100-2>

Cantillo-Barraza, O., Gómez-Palacio, A., Salazar, D., Mejía-Jaramillo, A. M., Calle, J., & Triana, O. (2010). Distribución geográfica y ecoepidemiología de la fauna de triatominos (Reduviidae: Triatominae) en la Isla Margarita del departamento de Bolívar, Colombia. *Biomedica: Revista Del Instituto Nacional de Salud*, 30(3), 382.

Chagas, C. Nova trypanozomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotripanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1909; 1(2):159-218.

Coura JR. Emerging Chagas diseases in Amazonian Brazil. Trends Parasitol 2002; 18: 171-75.

D'Alessandro A, Barreto P, Thomas M 1981. Nuevos registros de triatomíneos domiciliarios y extradomiciliarios en Colombia. *Colombia Médica* 12: 75-85.

D'Alessandro A, Barreto P, Saravia N, Barreto M. Epidemiology of *Trypanosoma cruzi* in the oriental plains of Colombia. Am J Trop Med Hyg. 1984 Nov; 33(6):1084-95. doi: 10.4269/ajtmh.1984.33.1084. PMID: 6439062.

Dias, F. B. S., de Paula, A. S., Belisário, C. J., Lorenzo, M. G., Bezerra, C. M., Harry, M., & Diotaiuti, L. (2011). Influence of the palm tree species on the variability of *Rhodnius nasutus* Stål, 1859 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Infection, Genetics and Evolution*, 11(5), 869-877.

Díaz, M. L., & González, C. I. (2014). Enfermedad de Chagas agudo: transmisión oral de *Trypanosoma Cruzi* como una vía de transmisión re-emergente. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*, 46(2), 177-188.

Feliciangeli, M. D., Hernández, M., Suarez, B., Martínez, C., Bracho, J., Toyo, J., Torrellas, A., & Marrero, R. (2007). Comparación de métodos de captura intradoméstica de triatomíneos vectores de la enfermedad de Chagas en Venezuela. XLVII (1959).

Galeano, G., & Bernal, R. (2010). Palmas de Colombia. Guía de Campo. 2010, 688. [https://doi.org/10.1016/S0025-7753\(08\)76425-X](https://doi.org/10.1016/S0025-7753(08)76425-X)

García-Jordán, N., Berrizbeitia, M., Concepción, J. L., Aldana, E., Cáceres, A., & Quiñones, W. (2015). Estudio entomológico de vectores transmisores de la infección por *Trypanosoma cruzi* en la población rural del estado sucre, Venezuela. *Biomédica*, 35(2), 247–257.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i2.2390>

Guhl F, Pinto N, Aguilera G. Sylvatic triatominae: un nuevo desafío en la transmisión del control de vectores. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009; 104 Suppl 1: 71–5.

Guhl F. Variables ambientales, sensores remotos y sistemas de información geográfica aplicados al estudio de la distribución de *Rhodnius prolixus* en Colombia. *Revista Acad Colombiana Cienc Exact Fis Natur*. 2010; 34: 27–35.

Guhl, F, Restrepo, M., Angulo, V., Antunes, C., & Campbell-Lendrum, D. (2005). Gestión para la vigilancia entomológica y el control de la transmisión de la ECH. *TRENDS in Parasitology*, 21, 259–262.

Guhl, Felipe, Aguilera, G., Pinto, N., & Vergara, D. (2007). Actualización de la distribución geográfica y ecoepidemiología de la fauna de triatominos (Reduviidae: Triatominae) en Colombia. *Biomédica*, 27(SUPPL. 1), 143–162. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v27i1.258>

Guhl, Felipe. (1999). Estado actual del control de la enfermedad de Chagas en Colombia. *Medicina*, 59(SUPPL. 2), 103–116.

Guhl, Felipe. (2005). *Memorias del Primer Taller Internacional sobre Control de la Enfermedad de Chagas*. Universidad de los Andes. Bogotá, Colombia. 2 - 6 de mayo de 2005 435 pp.

Gurgel-Gonçalves, R., Duarte, M. A., Ramalho, E. D., Palma, A. R. T., Romaña, C. A., & Cuba-Cuba, C. A. (2004). Distribuição espacial de populações de triatomíneos (Hemiptera:

Reduviidae) em palmeiras da espécie *Mauritia flexuosa* no Distrito Federal, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 37(3), 241–247. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822004000300010>

Hernández JL, Rebollar-Téllez EA, Infante F, Morón A, Castillo A. Indicadores de infestación, colonización e infección de *Triatoma dimidiata* (Latreille) (Hemiptera: Reduviidae) en Campeche, México. *Neotrop Entomol.* 2010;39:1024-1031. Doi:<http://dx.doi.org/10.1590/S1519-566X2010000600027>

Hoyos R, Pacheco L, Agudelo L, Zafra G, Blanco P, Triana O. Seroprevalencia de la enfermedad de Chagas y factores de riesgo asociados en una población de Morroa, Sucre. *Biomédica.* 2007;27 (1):130-6. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v27i1.256>

Lent H. & Wygodzinsky P.(1979).Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas disease. *Bull. Am. Mus. Nat. His.* 163: 123-520.

López Cifuentes, M. (2006). *Promoción, prevención, vigilancia y manejo clínico de la enfermedad de Chagas /Promotion, prevention, surveillance and clinical handling of Chagas disease.*

Manuel Santamaría, O., Pilar, B., & Ignacio J, M. (2007). Educación continuada en el laboratorio clínico. *Enfermedades Hepáticas Autoinmunes*, 7(Unidad de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Granada, Granada), 44–52.

Molina, J. A., Gualdrón, L. E., Brochero, H. L., Olano, V. A., Barrios, D., & Guhl, F. (2000). Distribución actual e importancia epidemiológica de las especies de triatominos (Reduviidae: Triatominae) en Colombia. *Biomédica*, 20(4), 344. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v20i4.1078>

Montaño, Y. (2015). Capítulo 13. Vigilancia de Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) en Norte de Santander. En: G.J. Parra, M. Flórez y V.M. Angulo (Eds), *Vigilancia de Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) en Colombia* (1era Ed., pp. 94-104). Bogotá D.C. Colombia. Editorial Sic Editorial Ltda.

Olivares I, Galeano G. Producción de hojas e inflorescencias de la palma vitivinícola ( *Attalea butyracea* ) en el valle seco del río Magdalena, Colombia. *Caldasia*. 2013; 35: 37–48.

OMS, 2020. Enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). *Epidemiología*. 24 de mayo de 2019. <https://www.who.int/chagas/en/> (consultado el 20 de septiembre de 2021).

Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud. (2019). Retrieved September 30, 2021, from <https://www.minsalud.gov.co/Paginas/Otros-33-municipios-de-Colombia-bloquearon-la-transmision-de-la-enfermedad-de-Chagas.aspx>.

Parra G.J., Flórez M. y Angulo V.M. (Eds). *Vigilancia de Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) en Colombia* (1era Ed., pp. 127). Bogotá D.C. Colombia. Editorial Sic Editorial Ltda.

Patterson James S, Guhl F. Geographical distribution of Chagas disease. En: Tibayrenc M, editor. *American Trypanosomiasis*. Editorial Elsevier; 2010. P. 84-115

Pavia, P. (2004), Identificación de *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma rangeli* mediante PCRs. Consultado en:

Pavia, V. (2020).

Pérez, G. (2010). MONOGRAFIA MUNICIPIOS DE NORTE DE SANTANDER. Recuperado 9 de junio de 2020, de <http://sonipsol.blogspot.com/2010/05/monografia-municipios-de-norte-de.html>

Ramírez, J. D., Montilla, M., Cucunubá, Z. M., Floréz, A. C., Zambrano, P., & Guhl, F. (2013). Molecular epidemiology of human oral Chagas disease outbreaks in Colombia. *PLoS Negl Trop Dis*, 7(2), e2041.

Rassi, A.; Luquetti, A. O. Current chemotherapy of American trypanosomiasis, Chapter 22. In: *The Trypanosomiasis*. Ed. Maudlin P.H., Holmes P.H. & Miles M.A. London: CAB International; 2004. p. 421-429.

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. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v29i1.47>

Reyes M, Torres A, Esteban L, Flórez M, Angulo V. Riesgo de transmisión de la enfermedad de Chagas por intrusión de triatomíneos y mamíferos silvestres en Bucaramanga, Santander, Colombia. *Biomédica*. 2017;37(1):68-78. Doi:<https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i1.3051>

Salazar D, Calle J. Caracterización ecoepidemiológica de *Rhodnius pallescens* en la Palma *Attalea butyracea* en la región Momposina (Colombia). *Actualidades Biológicas*. 2003;78:31-8.

Sambrook, J., Fritsch, E.F., and Maniatis, T. 1989. *Molecular cloning: a laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y

Soto H, Tibaduiza T, Montilla M, Triana O, Suárez DC, Torres Torres M, et al. Investigación de vectores y reservorios en un brote agudo de Chagas por posible transmisión oral en Aguachica, Cesar, Colombia. *Cad Saude Publica*. 2014; 30 (4): 746–56.

Tamayo. L, Cordovez. J, Guhl. F. (2015). Efecto de la temperatura sobre el ciclo de vida de *Rhodnius prolixus*. Consultado en: <https://repositorio.uniandes.edu.co/bitstream/handle/1992/16891/u703165.pdf?sequence=1>

Ucrós H, Rocha H, Duque M (1971). Consideraciones clínicas, epidemiológicas, serológicas y parasitológicas sobre 141 casos de enfermedad de Chagas. *Antioquia Médica* 1971; 21: 629-673

Urbano, P., Hincapié, E., Angulo, V., Esteban, L., & Núñez-Avellaneda, L. (2018). Population variation of *Rhodnius prolixus* (Reduviidae: Triatominae) in *Attalea butyracea* (Arecaceae) in the Colombian Orinoquia region. *Revista Colombiana De Entomología*, 44(2), 211-216. <https://doi.org/10.25100/socolen.v44i2.7315>

Urbano, P., Poveda, C., & Molina, J. (2015). Effect of the physiognomy of *Attalea butyracea* (Arecoideae) on population density and age distribution of *Rhodnius prolixus* (Triatominae), (18), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0813-6>

Vásquez, C., Robledo, S., Calle, J., & Triana, O. (2013). Identificación de nuevos escenarios epidemiológicos para la enfermedad de Chagas en la región momposina, norte de Colombia. *Biomédica*, 33(4), 526–537. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i4.836>

Vidaurre, P. (2016). Jornadas de actualización en enfermedad de Chagas, Vigilancia Entomológica en Áreas libres de riesgo de transmisión de Chagas en el Departamento de La Paz, octubre de 2016, Sucre-Bolivia.

World health organization. [citado el 22 de septiembre de 2021]. Extraído de: [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/resources/vector210to222.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/resources/vector210to222.pdf)

World Health Organization. Control of Chagas disease. Second report of the Expert Committee. Geneva: World Health Organization; 2002. (WHO Technical Report Series, 905).

Zambrano, P. (2010). Estrategia y plan de acción para la prevención, el control y la atención de la Enfermedad de Chagas. *Protocolo de Vigilancia En Salud Pública*, 28.

Zingales B, Miles MA, Campbell DA, Tibayrenc M, Macedo AM, Teixeira MMG, Schijman AG, Llewellyn MS, Lages-Silva E, Machado CR, Andrade SG, Sturm NR 2012. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infect Genet Evol* 12: 240-253

✓ **Abreviaturas**

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

ADN: Ácido desoxirribonucleico

T.C: *Trypanosoma cruzi*

N1: Ninfas de primer estadio

N2: Ninfas de segundo estadio

N3: Ninfas de tercer estadio

N4: Ninfas de cuarto estadio

N5: Ninfas de quinto estadio y adulto.

ZVLM: Zulia, vereda La Macarena.

## Anexos

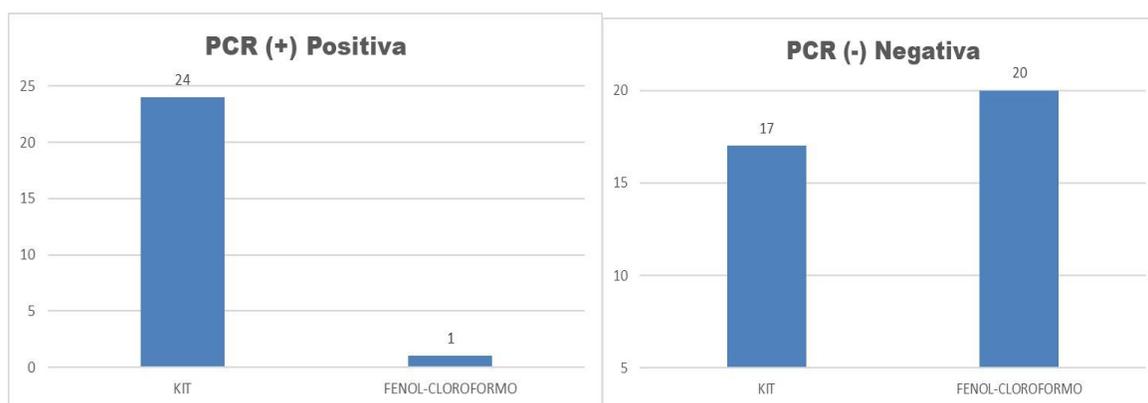
### Tabla.

#### *Análisis de individuos (PCR)*

Positivos	Negativos	Total
40% (25/62)	60% (37/62)	62



**Grafica.** Del total de muestras analizadas se obtiene que existe un mayor % con PCR negativo.



**Gráficas.** según el método utilizado para extracción, se muestran en las gráficas los resultados de cada protocolo empleado con resultados positivos y negativos para PCR.