

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Ciclo de vida, hábitos de alimentación y defecación de *Triatoma carrioni*

(Larrouse, 1926) pertenecientes a la provincia de Loja, bajo condiciones controladas de laboratorio.

Disertación previa a la obtención del título de Licenciada

en Ciencias Biológicas

Fátima Anabel Padilla Narváez

Quito, 2016

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Biológicas de la candidata Fátima Anabel Padilla Narváez ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Anita G. Villacís

Directora de la Disertación

Quito 2016

DEDICATORIA

A mi abuelo Gonzalo Coral Narváez Aguirre mi pilar, mi sustento, mi fuerza y mi luz en momentos difíciles, por permitirme soñar siempre y alentarme en mis metas, para lograr lo que me he propuesto. Tal vez físicamente ya no esté junto a mí, pero su ímpetu, fuerza y consejos me guiarán por siempre.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero dar un sincero agradecimiento a la Dra. Anita Villacís, directora de la tesis, quien ha sido una base fundamental en mi incursión en la ciencia, por ser una gran maestra, por sus consejos, su amistad, su tiempo, gracias por la confianza puesta en mi desde el principio hasta al final del mismo, por apoyarme siempre y brindarme su mano para seguir.

Al Dr. Mario Grijalva y todo el equipo que conforma el Centro de Investigación en Enfermedades Infecciosas y Crónicas (CIEIC), por su colaboración y financiamiento para la realización de este proyecto.

Al Ing. Julio Sánchez por su amistad y colaboración en la formulación estadística de la tesis.

A la Dra. Ana Lucía Moncayo, por sus comentarios y apoyo para la validación estadística, así como importantes aportes para la futura publicación de la tesis.

A mi profesor, y lector de tesis, Dr. Clifford Keil, por todas sus recomendaciones, y sugerencias, además de su apoyo durante mi etapa estudiantil.

A los habitantes de las comunidades de la provincia de Loja por su apertura y amabilidad al permitirme ingresar en sus hogares.

Al Servicio Nacional de Erradicación de la Malaria (SNEM) de Loja y Manabí, por su importante colaboración en la recolección de triatominos para la realización de este proyecto, por la amistad, trabajo y la experiencia brindada.

A mis cuatro sobrinas, Bethsabé, Abigaíl, Rebeca y Elizabeth quienes me permiten seguir creyendo en la familia.

A mis amigas Mayra Ninazunta, Gabriela Pazmiño, Andrea Vallejo, Kathy Mosquera, Yamara Serrano, Karla Pazmiño, Carolina Martínez, por siempre estar a pesar de los kilómetros, los continentes, y las dificultades.

Y finalmente, pero muy importantes, a mis hermanos Andrés Guevara, Stalin Guevara, Henry Guevara, Pablo Guevara, David Bravo, Aníbal Valladares, por no dejarme jamás, por ser quienes son, apoyándome en cada locura, dejándome ser yo misma; porque pase lo que pase, cerca o lejos yo siempre los voy a amar.

*“La vida no es fácil, para ninguno de nosotros.
Pero... ¡qué importa! Hay que perseverar y sobre
todo, tener confianza en uno mismo.”*

Marie Curie

TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
TABLA DE CONTENIDO	viii
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABLAS	xiii
LISTA DE ANEXOS	xiv
1 RESUMEN	1
2 ABSTRACT	3
3 INTRODUCCIÓN	5
3.1 Historia	5
3.1.1 Epidemiología de la ECh	6
3.2 Diferentes Formas de Transmisión de la Enfermedad de Chagas	9
3.2.1 Transmisión transfusional de Sangre	9
3.2.2 Transmisión por trasplante de órganos	10
3.2.3 Transmisión por vía oral	11
3.2.4 Transmisión congénita	12
3.2.5 Transmisión por accidentes de laboratorio	12
3.2.6 Transmisión Vectorial	13
3.3 Síntomas y Diagnóstico de la Enfermedad de Chagas.	13

3.3.1 Síntomas y Tratamiento.....	13
3.3.2 Diagnóstico.....	15
3.3.3 Fase aguda de la Enfermedad de Chagas.....	16
3.3.4 Fase indeterminada de la Enfermedad de Chagas	17
3.3.5 Fase crónica de la Enfermedad de Chagas	18
3.4 <i>Trypanosoma cruzi</i> , agente causal de la Enfermedad de Chagas y su ciclo de vida	19
3.5 Insectos transmisores de la Enfermedad de Chagas	22
3.5.1 Triatomíneos en América	22
3.5.2 Triatomíneos en el Ecuador.....	24
3.5.3 <i>Triatoma carrioni</i>	25
3.6 Eficacia Vectorial	26
3.7 Morfología de los Triatomíneos	27
3.8 Ciclo de Vida de los Triatomíneos	28
3.9 Objetivos	29
3.9.1 Objetivo General.....	29
3.9.2 Objetivos Específicos	30
4. MATERIALES Y MÉTODOS	31
4.1 Área de estudio	31
4.1.1 Provincia de Loja.....	31
4.1.2 Actividades Económicas.....	32
4.1.3 Viviendas del cantón Calvas.....	33

4.2 Recolección de Triatominos en zonas sinantrópicas del Cantón Calvas.....	34
4.3 Procedimiento en el Laboratorio	37
4.3.1 Toma de Individuos para experimento	37
4.4 Ciclo de Vida.....	38
4.5 Hábitos de alimentación y defecación	40
4.5.1 Alimentación	40
4.5.2 Defecación.....	40
4.6 Análisis de los datos	41
4.6.1 Descripción de las variables	44
4.6.1.1 Ciclo de vida ovoposición y mortalidad de <i>Triatoma carrioni</i>	44
4.6.1.2 Para hábitos de alimentación y defecación.....	45
5. RESULTADOS	48
5.1 Ciclo de Vida de <i>Triatoma carrioni</i> bajo condiciones de laboratorio.....	48
5.1.1 Mortalidad de <i>Triatoma carrioni</i>	50
5.2 Hábitos de alimentación y defecación de <i>Triatoma carrioni</i> en laboratorio.....	50
5.2.1 Hábitos de alimentación	50
5.2.1.1 Tiempo de alimentación	51
5.2.1.2 Tiempo en el que ingresó la probóscide al hospedero.....	51
5.2.1.3 Cantidad sangre ingerida en mg. Y peso aumentado.....	53
5.3 Hábitos de defecación de <i>Triatoma carrioni</i>	54
6. DISCUSIÓN	56

6.1 Ciclo de Vida.....	57
6.2 Hábitos de alimentación y defecación.....	64
6.2.1 Alimentación.....	64
6.2.2 Defecación.....	66
7. CONCLUSIONES	69
8. RECOMENDACIONES	72
9. LITERATURA CITADA	74
10. FIGURAS	87
11 TABLAS	108
12 ANEXOS	115
DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN	131

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Dr. Carlos Chagas	88
Figura 2. Mapa de la distribución mundial de la Enfermedad de Chagas.....	89
Figura 3. Parásito de la Enfermedad de Chagas y su ciclo de vida.....	90
Figura 4. Ciclo de vida de la Enfermedad de Chagas.....	91
Figura 5. Triatomíneos de Ecuador	92
Figura 6. Provincias donde se han reportado la presencia de los 16 triatomíneos con enfoque de importancia entomológica.....	93
Figura 7. <i>Triatoma carrioni</i>	94
Figura 8. Comparación de proboscides	95
Figura 9. Estadios ninfales y adultos de <i>Triatoma. carrioni</i>	96
Figura 10. Mapas de la Provincia de Loja y el Cantón Calvas.....	97
Figura 11. Mapa de las casas visitadas en Jacapo	98
Figura 12. Procedimiento en el campo	99
Figura 13. Procedimiento en laboratorio	100
Figura 14. Metodología en el laboratorio	101
Figura 15. Ciclo de Vida	102
Figura 16. Mortalidad de <i>Triatoma carrioni</i>	103
Figura 17. Tiempo de alimentación.....	104
Figura 18. Ingreso de la proboscide	105
Figura 19. Miligramos de sangre ingerida.....	106
Figura 20. Defecación de <i>Triatoma carrioni</i>	107

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Análisis descriptivo del ciclo de vida de <i>Triatoma carrioni</i> , de la provincia de Loja, bajo condiciones de laboratorio.....	109
Tabla 2. Mortalidad de <i>Triatoma carrioni</i>	110
Tabla 3. Tabla de alimentación de <i>Triatoma carrioni</i>	111
Tabla 4. Tabla del tiempo de ingreso de la proboscide de <i>Triatoma carrioni</i> al hospedero.....	112
Tabla 5. Defecación de <i>Triatoma carrioni</i> durante y después de la alimentación	113
Tabla 6. Resumen de hábitos de alimentación y defecación de <i>Triatoma carrioni</i>	114

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento, para recolección de triatominos.....	116
Anexo 2. Ficha de vivienda	117
Anexo 3. Ficha entomológica.....	118
Anexo 4. Cálculo de piretroide por vivienda visitada	119
Anexo 5. Tabla de datos que se mantuvo para cada uno de los triatominos estudiados, durante el experimento, en la fase laboratorio.....	120
Anexo 6. Tabla de ciclo de vida para anotación de mudas, por fechas, y estadio ninfal de cada individuo.....	121
Anexo 7. Tabla de hábitos de alimentación y defecación,	122
Anexo 8. Ciclo de vida de <i>Triatoma carrioni</i>	123
Anexo 9. Alimentación de <i>Triatoma carrioni</i>	125
Anexo 10. Tiempo que le toma a <i>Triatoma carrioni</i> encontrar la vena para su alimento	127
Anexo 11. Tiempo que le toma a <i>Triatoma carrioni</i> alimentarse completamente.....	129
Anexo 12. Defecación de <i>Triatoma carrioni</i> durante la alimentación.....	130

1 RESUMEN

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*, se transmite principalmente por las heces contaminadas de vectores hematófagos de la subfamilia Triatominae conocidos en Ecuador con el nombre de "chinchorros". Algunas especies de triatominos tienen la capacidad de adaptarse a ambientes domiciliarios y peridomiciliarios donde transmiten *T. cruzi* al hombre. *Triatoma carrioni* coloniza hábitats sinantrópicos en el sur de Ecuador y norte de Perú en zonas secas como húmedas hasta 2.650 m de altitud. El objetivo de este estudio fue describir el ciclo de vida, patrones de alimentación y defecación de *T. carrioni* bajo condiciones controladas en laboratorio. Los especímenes analizados provienen de parentales recolectados en la provincia de Loja y se mantuvieron en incubadora, con temperatura de $24\pm 6^{\circ}\text{C}$, humedad de $70\pm 5\%$ y fotoperiodos de 12h (luz/oscuridad). El alimento se ofreció diariamente a NI (estadio ninfa I) hasta su primera ingesta, después se estableció tiempos de alimentación una vez por semana en períodos de 20 min. Los datos recolectados fueron: (a) tiempo de inserción de la probóscide del triatomino; (b) tiempo de alimentación, (c) tiempo de defecación (durante la alimentación y 20 minutos posteriores a la alimentación). Resultados revelaron un tiempo aproximado de $433,87\pm 189,41$ días para su ciclo de vida, se observó una alta tasa de mortalidad en NI 24,4% al igual que en NV 33,3%. Respecto a los hábitos de alimentación y defecación, el tiempo de alimentación osciló entre $20,1\pm 11,1$ min (NI) a $39,5\pm 22,7$ min (NV). El tiempo de defecación varió de (NI) $9,4\pm 10,3$ a (NV) $27,0\pm 34,9$ min durante la alimentación. Finalmente, este estudio sugieren que *T. carrioni*, es una especie anual y un vector potencial de *Trypanosoma cruzi* en la provincia de Loja. El conocimiento de poblaciones de *T. carrioni* en zonas

sinantrópicas de nuestro país, puede tener un impacto significativo en la prevención y control de la Enfermedad de Chagas en el Ecuador

Palabras claves: Enfermedad de Chagas, *Triatoma carrioni*, ciclo de vida, hábitos de alimentación y defecación.

2 ABSTRACT

Chagas disease or American trypanosomiasis is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*. It is transmitted primarily through contaminated feces of blood-sucking vectors of subfamily Triatominae known in Ecuador as "chinchorros". Some triatomine species have the ability to adapt to domiciliary and peridomiciliary environments where *T. cruzi* is transmitted to humans. *Triatoma carrioni* colonizes synanthropic habitats in dry and wet areas up to 2650 m in southern Ecuador and northern Peru. The objective of this study was to describe the life cycle, feeding and defecation patterns of *T. carrioni* under controlled laboratory conditions. The specimens collected in the province of Loja and maintained in an incubator with a temperature of $24\pm 6^{\circ}\text{C}$, relative humidity of $70\pm 5\%$ and 12h photoperiod (light / dark). Food was offered daily to NI (nymph stage I) until its first successful meal. After that, feeding opportunities were offered once per week for periods of 20 min. The data collected were: (a) insertion time of the proboscis; (b) total feeding time, and (c) time of defecation (during feeding and 20 minutes after feeding). The life cycle was approximately 433.9 ± 189.4 days. Total feeding time varied between 20.1 ± 11.1 min (NI) to 39.5 ± 22.7 min (NV). There was a high mortality rate, 24.4% NI and NV 33.3%. The time of defecation varied from (NI) to 10.3 ± 9.4 (NV) $27, 0\pm 34.9$ min during feeding. This study suggests that *T. carrioni* is an annual species and a potential vector of *Trypanosoma cruzi* in Loja Province. Improved knowledge of

populations of *T. carrioni* in synanthropic areas of Ecuador can have a significant impact on the prevention and control of Chagas disease.

Key words: Chagas disease, vector, *Triatoma carrioni*, Life cycle, feeding and defecation patterns.

3 INTRODUCCIÓN

3.1 Historia

La enfermedad de Chagas (ECh) o tripanosomiasis americana fue descrita y descubierta por el médico brasileño Dr. Carlos Chagas en 1909. Le tomó un año examinar muestras de sangre de una niña de 2 años e identificar el protozoo flagelado para poder concluir a ciencia cierta que éste es el patógeno causante de la infección que presentaba la pequeña de la que extrajo la muestra (Craig y Faust, 1975).

En un principio, el médico Carlos Chagas creyó equivocadamente que la principal vía de transmisión de la infección fue por la picadura del insecto triatomino hematófago. Sin embargo, tras varios ensayos afirmó que la transmisión de la enfermedad se produce por las heces de los insectos, cuando éstas se ponen en contacto con la piel de la persona mientras se alimenta de su sangre, o por el contacto con los ojos al manipularlos con las manos previamente contaminadas (Chagas, 1909) (Figura 1).

Más de cien años han pasado de este gran aporte científico. Hasta el momento es el único médico investigador que ha descrito toda la vía de contagio de una enfermedad desde el patógeno, pasando por el vector, los hospederos de la enfermedad, y el cuadro clínico en las diferentes etapas (WHO, 2010).

Al patógeno de la enfermedad, lo identificó como una nueva especie de *Trypanosoma*, a la que bautizó con el nombre de *Trypanosoma cruzi*, en agradecimiento al científico

brasileño Oswaldo Cruz, su jefe y mentor quien ayudo durante la investigación de la ECh (Castagnirio y Thompson, 1984).

3.1.1 Epidemiología de la Enfermedad de Chagas.

La ECh es endémica de países Latinoamericanos incluyendo el Caribe; desde el sur de Estados Unidos hasta el sur de Argentina, abarcando 21 países, afectando principalmente a personas en condiciones de extrema pobreza, de países en vías de desarrollo (Figura 2).

El Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) en Atlanta, Estados Unidos, informó que 1 de cada 27.500 donantes de sangre da positivo en Chagas y esta cifra aumenta para Texas; a pesar de que en la actualidad se cree que hay más de 300.000 personas infectadas en los EEUU “los casos siguen teniendo su origen en los inmigrantes de Centro- y Sudamérica”. La Organización Mundial de la Salud (OMS), en el año 1991, estimó que de 11 a 18 millones de personas estuvieron infectadas en toda América, y que 100 millones se encontraban en riesgo de contraer la misma (WHO, 1991).

Estimaciones realizadas por la OMS en el 2007 indicaron que las personas con ECh, están por debajo de 8 millones. A pesar de la disminución de casos que evidencian un avance, en cuanto al control vectorial, el número de personas portadoras de la enfermedad aún es preocupante (WHO, 2007).

La presencia y extensión de la ECh en Latinoamérica, estima que la pérdida económica es de 6.500 millones de dólares (equivalente a 1,3 % de la deuda externa de toda Sudamérica en 1993). Además de la pérdida de 614.000 DALYS (años de vida ajustados a la incapacidad) en 1990 y 2.740.000 en 1993 (Jörg y Storino, 2002).

Sin embargo, las estrategias de control no han mermado estas cifras tan alarmantes, ya que estimaciones realizadas 10 años posterior a los datos de Jörg y Storino (2002), indican que en el año 2012 la pérdida de DALYS es de 528.000, apenas una reducción de 86.000, es decir un 14% (WHO, 2012).

En el año 2010, en América del Sur, se reportó que hay cerca de 10 millones de personas con ECh; es decir, mayor número de casos que el reporte del año 2007, de los cuales 2 millones se encuentran en Brasil y anualmente más de 10.000 personas mueren a causa del parásito *T. cruzi* (WHO, 2010). Todo el esfuerzo e inversión para el estudio, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad han sido escasos, a pesar de su ardua investigación (Boletín de la Organización Mundial de la Salud, 2009).

Se estima que en Ecuador alrededor de 30.000 y 50.000 personas están infectadas con el parásito de *T. cruzi*, y que 3,8 millones están en riesgo de contraer la enfermedad (WHO, 2002; Aguilar *et al.*, 2001).

Una de las principales causas para este elevado número de casos en Ecuador es la capacidad de los triatomíneos de colonizar nuevos ambientes, y la fragilidad de las viviendas en zonas rurales de las diferentes poblaciones ecuatorianas (Nieto-Sanchez *et al.*, 2015).

En un principio, los triatomíneos se restringían a zonas silvestres donde adquirirían alimento de mamíferos pequeños como zarigüeyas (*Didelphis marsupialis*), ardillas (*Sciurus stramineus*), ratas (*Rattus rattus*) murciélagos, y otros animales. Una vez que el ser humano se estableció en zonas apartadas, facilitó la colonización de los triatomíneos en ambientes sinantrópicos (peridomicilio y domicilio) (Tanowitz *et al.*, 1992).

El peridomicilio se considera a la zona donde el ser humano se desarrolla habitualmente y se desenvuelve con continuidad, pudiendo estar dentro de 50 m hasta 200 m de la periferia de su hogar (Carcavallo y Plencovich, 1973).

En esta zona, los triatomíneos obtienen su alimento de mamíferos y aves que están en contacto con el ser humano, como cuyes, conejos, perros, gatos, caballos y aves de corral (Schofield, 2001).

El domicilio es el área donde el ser humano habita, es decir su vivienda. En esta zona los triatomíneos adquieren directamente el alimento del ser humano, sin importar edad,

raza, ni sexo, por lo que la ECh puede transmitirse con mayor facilidad (Felicangeli *et al.*, 2004).

Como explicamos con anterioridad, la fragilidad de las viviendas es un pilar fundamental en la transmisión de ECh. La construcción de las viviendas con materiales de mejor calidad evita la formación de escondrijos para los triatominos (Nieto-Sanchez *et al.*, 2015).

Las condiciones de extrema pobreza en las comunidades vulnerables permiten que estos insectos puedan colonizar y establecerse provocando un problema epidemiológico (Grijalva *et al.*, 2005b).

3.2 Diferentes Formas de Transmisión de la Enfermedad de Chagas

3.2.1 Trasmisión Transfusional de Sangre

Pedreira de Freitas, en 1952, confirmó esta forma de trasmisión, al publicar los dos primeros casos de pacientes infectados por esta vía. Fue considerada la segunda forma de propagación de la enfermedad en la que los casos fueron significativamente numerosos (Freitas *et al.*, 1952).

Esta vía de transmisión, se observó principalmente en países donde la ECh no era endémica, es decir los casos que se reportaron fueron por casos importados y no por causas autóctonas (Canadá, España, EEUU).

En el caso de Ecuador, la ley de control obligatorio de Banco de Sangre, fue promovida en 1998; reportes indican que la prevalencia de muestras infectadas en todo el país por este medio es de apenas el 0,2% (WHO, 2002) (Grijalva *et al.*, 2005 a).

El contagio por este medio depende de diversos factores: a) la cantidad de sangre donada al paciente, b) el nivel de parasitemia en el momento de la transfusión, c) el estado del sistema inmunológico del paciente que recibe la sangre donada y d) la temperatura a la que se mantiene la sangre del donador (Grijalva *et al.*, 2005 a). Cabe, recalcar que *Trypanosoma cruzi* permanece viable a 4°C de 18 a 250 días (Nickerson *et al.*, 1989; Wendel, 1998; João, 2009).

3.2.2 Transmisión por trasplante de órganos

Esta forma de contagio se ha observado en los últimos años, con el aumento de pacientes donadores de órganos, por nuevas leyes y reglamentos internos de cada país. Al igual que la vía transfusional, esta forma de contagio también depende de varios factores para su eficacia (Boletín de la Organización Mundial de la Salud, 2009).

El mayor porcentaje de contagio de la ECh a través de trasplantes de órganos, es el de riñón, con un 35% de incidencia; seguido de trasplantes hepáticos, cardíacos, médula ósea y, más recientemente, de sangre de cordón umbilical (Márquez *et al.*, 2013).

En países latinoamericanos donde la enfermedad es endémica y la incidencia de casos es tan elevada, todos los órganos a ser trasplantados pasan por una rigurosa serología para la ECh. Por el contrario, en países donde el número de casos es mayor, la rigurosidad en la serología es escasa. Lo que resulta en que el diagnóstico de la ECh sea más tardío, y que el pronóstico de vida de cada paciente se vea comprometido (Días y Santos, 2012).

3.2.3 Transmisión por vía oral

La transmisión oral, se da de manera circunstancial y esporádica en humanos, esto ocurre por la ingesta de alimentos contaminados con heces de triatomíneos, y/o incluso, en un número mínimo de casos, por la ingesta de triatomíneos que se encontraban en la fruta y que estaban infectados con *T. cruzi*. Los brotes aparecen de forma súbita, afectando a un pequeño número de personas (Hoft, 1996).

En el 2005, se presentó un brote en Santa Catarina, Brasil, donde 45 casos sospechosos de ECh estuvieron relacionados a la ingesta de jugo de caña de azúcar. Treinta y un personas fueron diagnosticadas por análisis de laboratorio y se confirmaron cinco fallecidos (Valente *et al.*, 2006; Steindel *et al.*, 2008).

3.2.4 Transmisión congénita

La prevalencia de la infección por *T. cruzi* en mujeres embarazadas es uno de los factores de riesgo para la infección congénita y ésta varía de 5 a 40% según el área geográfica (Noireau, 1999). La principal vía de la transmisión vertical es la transplacentaria y puede ocurrir en cualquier fase de la enfermedad (Abad-Franch y Aguilar, 2000).

La transmisión también puede suceder en cualquier momento de la gestación, siendo más probable en el último trimestre, u ocurrir al pasar por el canal del parto, por el contacto de las mucosas del feto con la sangre de la madre infectada (Mazza *et al.*, 1936; Rassi *et al.*, 2007).

La infección materna por *T. cruzi* puede afectar el crecimiento y la madurez de los fetos infectados y causar aborto, prematuridad, crecimiento intrauterino retardado y malformaciones fetales (Días, 2006). En Ecuador se reporta una seroprevalencia de mujeres embarazadas con 0,1% en la región costera, no se identificó, transmisión en niños recién nacidos en la muestra observada (Costales *et al.*, 2015).

3.2.5 Transmisión por accidentes de laboratorio

Aunque es de las transmisiones menos frecuentes y con el menor número de casos, los accidentes de laboratorio también son posibles mecanismos de transmisión de la ECh. En estos casos la infección se debe por el contacto con diferentes especies de triatomos, y

la exposición a *T. cruzi* en las heces infectadas de estos vectores, o sangre de paciente y animales que lleven en su torrente sanguíneo la forma tripomastigote del parásito (Pinto-Días y Rodríguez-Coura, 1997).

La exposición en el laboratorio ha comprobado experimentalmente la posibilidad de infección a través de la mucosa oral y conjuntiva (Días y Santos, 2012).

3.2.6 Transmisión Vectorial

La forma más importante de transmisión de la ECh y con mayor número de casos, estamos hablando de la forma vectorial, donde el insecto Triatomino es el protagonista principal de la transmisión del parásito (Zeledón, 1981).

No todos los insectos de la subfamilia Triatominae poseen en sus intestinos *Trypanosoma cruzi*, que es un parásito hemoflagelado que llega al triatomino después de que éste se alimenta de sangre de animales (silvestres y/o domésticos) o humanos infectados (Blanco *et al.*, 2001).

3.3 Síntomas y Diagnóstico de la Enfermedad de Chagas.

3.3.1 Síntomas y tratamiento

Los signos y síntomas de la ECh son consecuencia de la infección en las células de los

distintos tejidos por el parásito *T. cruzi*. Esta enfermedad presenta dos fases muy diferenciadas: aguda y crónica. Además de una fase intermedia conocida como fase indeterminada (Días y Santos 2012).

La ECh puede tratarse con benznidazol (Roche), y también con nifurtimox (Bayer), que matan al parásito. Estos tratamientos han demostrado eficacia de casi el 100% para curar la enfermedad si se administran al inicio de la infección, es decir, en la etapa aguda. La eficacia de los medicamentos administrados será mayor, si se administra hasta dos meses de ocurrida la transmisión (WHO, 2015).

El benznidazol y el nifurtimox no deben administrarse a embarazadas ni a las personas con insuficiencia renal o hepática. El nifurtimox también está contraindicado en personas con antecedentes de enfermedades del sistema nervioso neurológicas o trastornos psiquiátricos (WHO, 2015).

Lastimosamente no se tiene un estudio, para Ecuador de cuáles son los costos de la medicación y tratamiento, pero un estudio se llevó acabo en nuestro país vecino, Colombia, indica que, el costo de un paciente chagásico crónico varía entre \$46,4 y \$7,981 pesos colombianos por año, dependiendo de la severidad y del nivel de atención utilizado, esto transformado en dólares, se aproxima a los \$436.60. (Guhl *et al.*, 2008).

Pero nulas son las estrategias de control, ya que al afectar esta enfermedad en su mayoría a zonas rurales, los pacientes tienen un acceso limitado a los cuidados de salud (WHO, 2015).

3.3.2 Diagnóstico

Según WHO, existen diferentes formas de diagnóstico de la ECh entre ellos el método de estudio indirecto, es decir búsqueda de anticuerpos en sangre.

Las técnicas más utilizadas son:

3.3.2.1 Pruebas Serológicas

a) IFI (Inmunofluorescencia directa) en la que se consideran títulos significativos las diluciones superiores a 1/32, esta es una técnica de inmunomarcación, es decir demuestra la presencia de anticuerpos unidos químicamente a una sustancia fluorescente en una determinada molécula.

b) HAI (hemaglutinación indirecta) se consideran títulos significativos las diluciones superiores a 1/16. En esta técnica se observa la presencia de antígenos en los eritrocitos, que sean capaces de reaccionar junto con los anticuerpos o proteínas específicas de algunos microorganismos.

c) ELISA (inmunoabsorción ligado a enzimas) es una técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable, como cambio de color o algún otro tipo.

En algunos casos se pueden presentar falsos positivos generalmente en pacientes con infecciones por *Leishmania* spp. o *T. rangeli*, para los cuales realizar PCR nos da una mayor especificidad, y por ende un mejor resultado, ya que esta técnica se utiliza como diagnóstico parasitológico en varias enfermedades. Esta técnica se basa en la amplificación de secuencias blanco de ADN, que se presentan de manera abundante y específica en el parásito (Guhl y Nicholls, 2001)

Es imprescindible (en todos los casos, pero en especial cuando se emplea un solo test) que se establezca un estricto sistema de control de calidad, y de evaluación periódica externa de los procedimientos de laboratorio WHO (2002).

3.3.3 Fase Aguda de la Enfermedad de Chagas

Esta fase se caracteriza por un periodo indeterminado de tiempo en el cual la infección es asintomática, es decir, no presenta padecimiento o síntomas. Ésta se caracteriza por una alta parasitemia e invasión tisular multiparenquimatosa, con una duración aproximada de entre uno o dos meses. En algunos casos se puede presentar un cuadro febril prolongado y persistente, además de visceromegalias (aumento de tamaño de los órganos internos que se encuentran en el abdomen: hígado, bazo, estómago, riñones o

páncreas). En niños de hasta 10 años, la sintomatología es poco específica, después de pasar por este periodo la infección progresa a una forma crónica (Nickerson *et al.*; 1989).

Cuando por fin se presentan los síntomas, se observa un nódulo cutáneo que se muestra como enrojecimiento de la piel. Generalmente es en el área de entrada del parásito, y es denominado “chagoma” (Jones *et al.*, 1993).

Otra afección que se presenta en esta fase es conocida como signo de “Romaña”, este signo se observa como una hinchazón en el ojo a consecuencia del ingreso del parásito por las heces infectadas de los triatomos y la manipulación con la mano del paciente cerca del ojo. También puede ocasionar conjuntivitis y linfadenitis preauricular (Lausi, 1979).

3.3.4 Fase indeterminada de la Enfermedad de Chagas

En esta etapa de la enfermedad la parasitemia es transitoria y la detección del parásito es aleatoria. Ésta etapa puede durar de 10 a 25 años aproximadamente después de la etapa aguda. La etapa indeterminada comienza con la remisión de los signos y síntomas de la fase aguda, con la reducción del número de tripomastigote metacíclicos que se encuentran en el torrente sanguíneo (Rojas, 2012).

Todos los pacientes infectados atraviesan por este período, pero sólo del 20% al 30% presentarán en su evolución evidencias clínicas de la enfermedad (Freitas *et al.*, 2005).

Muchos casos agudos no tratados pasan a la fase crónica indeterminada, donde pueden permanecer durante mucho tiempo en esta etapa o, evolucionar hacia formas crónicas sintomáticas cardíacas y/o digestivas, que pueden llegar a la muerte súbita del paciente (Wendel y Brener, 1992).

3.3.5 Fase crónica de la Enfermedad de Chagas

Esta fase de la enfermedad se presenta años después de la infección inicial, y a diferencia de la fase aguda ésta sí presenta síntomas. Principalmente, esta fase de la enfermedad afecta al sistema nervioso, al sistema digestivo y al corazón (Días y Santos, 2012).

El paso de la fase indeterminada a la fase crónica depende de varios factores, entre los que podemos mencionar: a) la raza, b) la existencia de cepas de mayor patogenicidad, c) la posibilidad de re-infectarse con diferentes cepas y la cantidad de inoculaciones, d) el tipo de trabajo e) las condiciones inmunológicas f) el estado nutricional g) factores de riesgo cardiovascular agregados (alcoholismo, tabaquismo, hipertensión arterial) (Kirchhoff, 2011).

En el cuadro clínico de esta fase podemos nombrar infecciones crónicas que dan como resultado desórdenes neurológicos como por ejemplo: la demencia, daño en el músculo cardíaco, conocido como miocardiopatía y, finalmente en casos más avanzados, se puede observar algunas veces la dilatación del tracto digestivo, a lo que se le conoce médicamente con el nombre de megacolon, cardiopatía chagásica, y megaesófago. En esta fase, puede presentarse pérdida de peso, problemas de deglución que pueden terminar con una severa desnutrición del paciente. Sin tratamiento, la ECh puede ser mortal, por lo que su detección en una etapa temprana puede significar un pronóstico positivo (Días y Santos, 2012).

3.4 *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la Enfermedad de Chagas y su ciclo de vida

En cuanto al patógeno podemos decir que *Trypanosoma cruzi* es un protozooario hemoflagelado microscópico. En general su cuerpo tiene forma alargada y está provisto de un flagelo y una membrana ondulante (Noyes, 1998; Barrett *et al.*, 2003).

Las poblaciones de *T. cruzi* circulan entre el hombre, el vector y los reservorios, durante su ciclo evolutivo sufren alteraciones que reflejan las adaptaciones del mismo al entorno en el que se encuentren (Hoare, 1972).

El parásito *T. cruzi* presenta un kinetoplasto compuesto de microtúbulos que van a lo largo del soma. El parásito al penetrar al hospedero por lesiones en la piel o la mucosa,

puede invadir una gran variedad de células, donde se transforma para dar lugar al amastigote, que es la forma reproductiva del parásito (Tay *et al.*, 1991).

La forma amastigote, por lo general se encuentra en el interior de la célula mamífera (principalmente en células musculares y nerviosas), es una forma no infectiva, pero si replicativa, la cual poseen una forma esférica u ovalada (Miles, 1998). Estas formas se multiplican por fisión binaria longitudinal, y deben darse un número mínimo de divisiones dentro del tejido infectado, para que este salga de la célula. Cuando el amastigote sale del tejido, puede tomar dos vías, una en la que se transforma en tripomastigote, y puede convertirse en infectivo y la segunda que puede continuar como amastigote e introducirse dentro de un nuevo tejido o célula, para repetir nuevamente su ciclo (Tibayrenc y Telleria, 2010).

Dentro del vector, estas formas se transforman en epimastigotes, que son formas móviles gracias a la aparición del flagelo; son alargados y poseen el kinetoplasto anterior al núcleo. Al igual que los amastigotes son formas replicativas, más no infectivas, pero los epimastigotes se encuentra en el intestino medio y/u orina del insecto hematófago. Esta forma es la que se reproduce más fácilmente en cultivos convencionales para *T. cruzi* (Búa *et al.*, 1990).

Finalmente, cuando el parásito ingresa al torrente sanguíneo del hospedero se lo conoce como tripomastigote. Éste toma una apariencia alargada parecida al epimastigote, pero se diferencia por la posición del kinetoplasto posterior al núcleo. Esta fase transmite la

enfermedad debido a que puede diseminarse a otras células y tejidos, constituyendo así la fase infecciosa del ciclo (Kirszenbaum y Stztein, 1994 Andrade y Andrews 2005)

Esta forma, cuando infecta a los mamíferos se encuentra en el torrente sanguíneo, se localiza, también en las heces de los vectores (triatominos), que gracias al proceso de metacicloogénesis, transforman su forma epimastigote en tripomastigote (Tibayrenc y Telleria, 2010). (Figura 3).

La clave, o desencadenante, que permite la transformación de la forma amastigote a tripomastigote, no está clara, varias son las hipótesis, pero las más nombradas son el crecimiento apresurado de los amastigotes dentro de la célula, por una cantidad abundante de parásitos en el medio circundante (Alves y Mortara, 2009).

El ciclo biológico en el triatomino comienza cuando el insecto se alimenta de sangre contaminada con tripomastigotes. Pocos días después de la alimentación, los tripomastigotes, se transforman en epimastigotes en el intestino medio del insecto. Estos se dividen por división binaria longitudinal y pueden adherirse a las membranas perimicrovillar, que son secretadas por las células epiteliales del intestino medio (Billingsley y Downe, 1986; Billingsley, 1990).

En el recto, una proporción de epimastigotes se diferencian en tripomastigotes metacíclicos (metacicloogénesis), que con el tiempo se eliminan junto con las heces y la

orina (García *et al.*, 2007). El establecimiento de la infección por *T. cruzi* en el intestino del insecto vector puede depender de, una serie de factores bioquímicos y fisiológicos complejos (García, 1987), ya que después de ser ingerido por el triatomino, los parásitos se encuentran con los componentes del intestino medio del insecto y los productos de la digestión de la sangre (factor hemolítica, enzimas proteolíticas, péptidos derivados de α D-globina y lectinas), simbioses bacterianas, y otras bacterias residentes en el intestino, que pueden influenciar la transformación de tripomastigote a epimastigote (García y Azambuja, 1991; García *et al.*., 1995;. Garcia *et al.*, 1999; Borges *et al.*, 2006).

3.5 Insectos transmisores de la Enfermedad de Chagas

Etimológicamente los insectos transmisores, se clasifican dentro del orden Hemiptera de la familia Reduviidae, subfamilia Triatominae, que se divide en 5 tribus: Alberproseniini, Bolboderini, Cavernicolini, Rhodniini y Triatomini (Ruppert y Barnes, 1996); Abad-Franch *et al.*, 2001). Su comportamiento estrictamente hematófago (ingesta de sangre) los coloca dentro de las tribus Rhodniini y Triatomini, que se diferencian de las otras por su importancia epidemiológica y por ser un factor principal en el control de la ECh (Andrade, 2014).

3.5.1 Triatominos en América

Estos insectos hematófagos son endémicos de América Latina donde son capaces de transmitir la ECh, a través de sus deyecciones, al momento de alimentarse, razón por la

cual sus asentamientos cercanos a los humanos los convierte en vectores eficientes de la ECh (WHO, 1991) (Figura 4).

La capacidad de colonización, de estos insectos, desde ambientes silvestres hacia ambientes sinantrópicos, han sido propiciados por cambios drásticos de la naturaleza.

Estos cambios pueden ser de tipo natural o provocados por el hombre, como la intensa deforestación de parches grandes de tierra, que los ha dejado sin fuente de alimento, y se han visto obligados a adquirir alimento humano y de animales domésticos (Hernández *et al.*, 2010).

Todas las especies se distribuyen ampliamente en climas cálidos tropicales y subtropicales. En general pueden ser considerados silvestres y confinados en nidos de ratas, ratones, armadillos y ardillas. Muchos de ellos utilizan otros reservorios silvestres como ganado bovino, equino, marsupiales (*Didelphis marsupialis*) y aves para succionarles sangre y completar su ciclo biológico (Farfán-García. y Angulo-Silva, 2011). Debido a la variedad de especies reservorios, todos deben ser considerados como vectores potenciales de la enfermedad, a menos que se realice un estudio exhaustivo de cada una de las especies (Tay *et al.*, 1996; Townsend-Peterson *et al.*, 2002).

Los triatominos son conocidos con diferentes nombres a lo largo del continente americano. Entre estos nombres podemos mencionar “chupo” “pito” en Colombia, “chinchés mamones” “chinchés de monte” en Panamá, “hitas” o “vinchuca” en Bolivia,

“barbeiro” en Brasil, “chinchas hocicones” en México, “chinchas” “chinchones” en Perú y en Ecuador son conocidos con el nombre de “chinchorros” y/o “chinche caballo” (Abad-Franch *et al.*, 2000; Moncayo, 1999).

3.5.2 Triatominos en el Ecuador

En Ecuador se ha reportado la presencia de 16 especies de triatominos de los cuales al menos siete muestran importancia epidemiológica en la transmisión de la ECh (Abad-Franch *et al.*, 2001). El último reporte de triatominos fue publicado recientemente, afirmando la presencia en nuestro país de *Rhodnius barretti* (Abad-Franch *et al.*, 2013) (Figura 5).

Este reporte ha identificado la presencia de triatominos para 18 de las 24 provincias de Ecuador, con un mayor porcentaje de casos reportados de infestación en la provincia de Manabí y Loja (Figura 6).

Los triatominos ocupan zonas geográficas con un amplio rango climático, incluyendo zonas de pluviosidad (desde 62.5-125mm/año en zonas de desierto tropical hasta 2000-4000mm/año en zonas de bosque lluvioso). Temperaturas medias anuales extremas (desde 12-18°C en el bosque montano bajo hasta 24-26°C en zonas costeras de bosques secos tropicales) (Abad-Franch *et al.*, 2001).

3.5.3 *Triatoma carrioni*

Esta especie es endémica de Ecuador y se ha adaptado favorablemente a la coexistencia con hábitats humanos. Se distribuye en la parte sur del país, exclusivamente en zonas subtropicales de la provincia de Loja (Molina *et al.*, 2000) y al noroccidente de Perú, en la ciudad de Piura, próximo a la frontera con Ecuador (Calderón, 1996).

T. carrioni ocupa un amplio rango de zonas ecológicas (áridas y húmedas, entre 1000 y 2650 m de altitud, a diferencia de las otras especies de triatominos que ocupan áreas a nivel del mar. *T. carrioni* es la única especie que se ha encontrado hasta los 2650 m.s.n.m. (metros sobre el nivel del mar) (Lumbreras *et al.*, 1955, Lent & Wygodzinsky 1979). Su capacidad para colonizar nuevos hábitats ha permitido su presencia en ambientes sinantrópicos (Grijalva *et al.*, 2015).

Estudios realizados por Grijalva *et al.*, (2015) indican que, en comunidades de la provincia de Loja, donde la presencia de *T. carrioni* es frecuente, las tasas de seroprevalencia de anticuerpos, anti-*T. cruzi* en humanos pueden superar el 20%. Esta información daría un soporte más fuerte para indicar que es un vector altamente eficiente.

En los valles interandinos del sur, representa un serio peligro para la salud de las poblaciones humanas. A pesar de ser una especie de vital importancia, *T. carrioni* no ha sido estudiada exhaustivamente. Por lo que, esta investigación busca aportar con

información importante para el control vectorial de la enfermedad en poblaciones sinantrópicas de Ecuador y Perú (Figura 7).

3.6 Eficacia Vectorial

Entre las características que definen un vector eficiente en la transmisión de *T. cruzi*, se incluyen el comportamiento alimentario, el número y la frecuencia de deyecciones durante y después de la alimentación, además del número de picadas realizadas durante este proceso (Diotaiuti *et al.*, 1995).

Para que un vector sea eficiente en la transmisión de *T. cruzi*, debe primero haber colonizado hábitats dominados por el ser humano, y haberse adaptado a las condiciones ambientales. Estas adaptaciones permiten que un triatomino que, en principio tenía colonias exclusivamente silvestres, pueda ahora ocupar diferentes nichos en el hábitat sinantrópico (Forantini, 1980; Ricklefs, 1983).

Otra de las características que se deben cumplir para un mejor desarrollo vectorial es que la tasa de reproducción sea alta, y que tenga una baja tasa de mortalidad que favorezca un mayor número de individuos, adicionalmente también es importante un ciclo de vida corto (Argolo *et al.*, 2008)

3.7 Morfología de los Triatominos

Los triatominos al ser clasificados dentro de la clase Insecta poseen tres segmentos corporales diferenciados denominados tagmas, y son: cabeza, tórax y abdomen, uniformemente recubiertas por un exoesqueleto (Argolo *et al.*, 2008).

En la cabeza se encuentra el aparato bucal de los triatominos que es también llamado probóscide o rostrum, es un apéndice chupador que permite la succión de la sangre, y en el momento de alimentarse toma un ángulo de 90 grados. El reconocimiento de especies hematófagas, predadoras y fitófagas se puede determinar con tan solo ver la forma de la probóscide de los insectos (Figura 8) (Abad-Franch., *et al* 2001).

En el segundo segmento corporal, es decir el tórax se encuentran las alas de los triatominos, que son visibles cuando estos completan su desarrollo biológico, y que no son de mucha utilidad, ya que estos insectos son malos voladores.

Finalmente, el tercer segmento corporal es el abdomen que en los adultos está compuesto de 11 segmentos. Los últimos segmentos forman las genitales de ambos sexos. La parte que bordea el abdomen muestra un patrón de manchas que varía en color y formas según la especie.

3.8 Ciclo de vida de los triatominos

El ciclo de vida y la dinámica poblacional de los triatominos dependen de la interacción con su alimento (huéspedes). Por tratarse de insectos hematófagos requieren ingestas de sangre mensual o incluso semanal, dependiendo de su estadio ninfal. Es necesario que se alimenten por lo menos una vez antes de cada periodo de muda (Villacís, *et al.*, 2008).

Los triatominos para completar su ciclo biológico deben pasar por cinco estadios ninfales (NI, NII, NIII, NIV, NV), sin incluir el estadio de huevo (Figura 9); Durante los cuales no presentan alas y son asexuados (inmaduros). Al culminar su proceso ninfal (NV) es decir, en el estadio adulto, la diferenciación sexual es evidente y se completa el desarrollo alar; sin embargo, no son buenos insectos voladores y su desplazamiento es mucho más efectivo por vía terrestre (Cáceres, 2005).

3.9 Estrategias de Control para la Enfermedad de Chagas

Los triatominos, tienen un rol fundamental en la transmisión de la ECh y dentro de los triatominos endémicos de nuestro país, existen especies como *Triatoma carrioni* que también comparte hábitat con países vecinos como Perú.

Es por ello, que el estudio de ciclos de vida, así como de su comportamiento alimenticio y de deyecciones es muy importante para generar estrategias de control vectorial para la ECh en la provincia de Loja.

Entre las estrategias de control, para la ECh, se propone el mejoramiento de las condiciones de las viviendas; así como un mejor manejo de como control entomológico.

Es también necesario mejorar la calidad del análisis de las donaciones de sangre, trabajando en conjunto con la Cruz Roja Ecuatoriana, al igual que Centros y Subcentros de Salud para descartar la presencia de la ECh; así como un diagnóstico temprano y eficaz en mujeres embarazadas (WHO, 2012) .

En Estados Unidos y en otras regiones donde está presente la ECh, aunque no a niveles endémicos, las estrategias de control se centran en prevenir la transmisión causada por las transfusiones de sangre, los trasplantes de órganos y la transmisión de madre a bebé (CDC, 2015).

3.9 OBJETIVOS

3.9.1 Objetivo General

Determinar el ciclo de vida, hábitos de alimentación y defecación de *Triatoma carrioni* bajo condiciones de laboratorio.

3.9.2 Objetivos Específicos

a) Ciclo de Vida

- Determinar el tiempo (número de días) que *T. carrioni* necesita para completar su desarrollo biológico.

- Estimar el porcentaje de mortalidad (%) por estadio ninfal de *T. carrioni* bajo condiciones controladas de laboratorio.

- Establecer el tiempo que necesitan los individuos de *T. carrioni* para mudar de un estadio ninfal a otro, hasta completar su desarrollo.

b) Hábitos de Alimentación y Defecación

- Determinar el tiempo (minutos) de alimentación de los individuos de *T. carrioni*.

- Conocer la cantidad de sangre ingerida (ingesta) y el peso ganado (mg) por cada uno de los especímenes de *T. carrioni*.

- Estimar el tiempo (minutos) transcurrido desde la alimentación hasta la primera defecación en los individuos de *T. carrioni*.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Área de estudio

Los triatominos que se utilizaron para esta investigación provienen de parentales recolectados en la Provincia de Loja de la comunidad Jacapo, cantón Calvas en el año 2005, pertenecientes al hábitat sinantrópico (peridomicilio y domicilio) (Autorización Científica N002-07-IC-FAU-DUBAPUS/MA), bajo el financiamiento de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador sede Quito y proyecto FOGARTI [KL4375 Centro Regional de Entrenamiento en Enfermedades Tropicales/ año 2 (2014) y 3 (2015)].

La fase de laboratorio se realizó en el Insectario y Bioterio del Centro de Investigación en Enfermedades Infecciosas y Crónicas (CIEIC) de la PUCE.

4.1.1 Provincia de Loja

La provincia de Loja tiene una superficie de 11.026 km² con aproximadamente 450.000 habitantes, su temperatura fluctúa en 16°C. La oscilación anual de la temperatura lojana es de 15°C, generalmente cálido durante el día y más frío y húmedo, por la noche (Castillo, 2012). Esta provincia muestra los cantones con el mayor porcentaje de pobreza de todo el país, como son el caso de Olmedo 88,84; Sozoranga 88,51%; Espíndola 88,36%; Zapotillo 86,85% (INEC, 2010).

La ciudad de Loja posee un microclima marcado, siendo el sector nororiental más cálido que el resto del área urbana. Según el estudio Geo-Loja, en los últimos cuarenta años, la temperatura de la ciudad se ha elevado en $0,7^{\circ}\text{C}$ (grados centígrados), habiéndose registrado en los años 2003-2004 las temperaturas más altas, las cuales han llegado a 28°C (Geo-Loja, 2007).

La temperatura que marcó las fechas de colecta de los parentales de nuestro estudio fue de 25°C . Esa temperatura puede oscilar $\pm 6^{\circ}\text{C}$ dependiendo de la estación, tal como se ha observado durante las investigaciones realizadas por el CIEIC, por ello, las temperaturas que se simulan en el laboratorio son de $24\pm 6^{\circ}\text{C}$ según los protocolos de Villacís *et al.*, 2008 y Mosquera *et al.*, in press.

La comunidad de Jacapo se encuentra ubicada dentro del cantón Calvas. Según el censo de noviembre del 2001, en este cantón existen 28.185 habitantes, y un total de 6.768 viviendas, además de un porcentaje de analfabetismo del 6,2%, con un promedio de vida de 76 años (INEC, 2010). La altitud de este Cantón va desde los 1.100 m hasta los 2.400 m.s.n.m (INAMHI, 2013) (Figura 10).

4.1.2 Actividades Económicas

El cantón Calvas, por tener una variedad de climas, da lugar a que se cultiven una diversidad de productos agrícolas, entre los cuales podemos anotar: café (*Coffea arabica*), maíz (*Zea mays*), arveja (*Pisum sativum*), fréjol (*Phaseolus vulgaris*), haba

(*Vicia faba*), zarandaja (*Lablab purpureus*), etc. Entre los principales productos que proporcionan mayores ingresos económicos tenemos, café (*Coffea arabica*), maní (*Arachis hypogaea*), maíz (*Zea mays*), arveja (*Pisum sativum*), fréjol (*Phaseolus vulgaris*), naranja (*Citrus sinensis*) y panela (Espinosa, 1997).

Los animales que más se comercializan en el cantón Calvas son el ganado vacuno, porcino, caprino, caballar y aves de corral. El ingreso económico es limitado a los productos que se cultivan en la zona y no se tiene ingresos extras de fuentes externas (FLACSO, 2001).

4.1.3 Viviendas del cantón Calvas

Las viviendas generalmente están alejadas unas de otras por varios metros y en condiciones de poca movilidad, por lo que su acceso es estrictamente en “rancheras” que son vehículos adaptados para el terreno por donde se movilizan, no poseen puertas ni ventanas, por lo que los pobladores están expuestos a la intemperie.

Las viviendas son de aspecto rústico con pisos de tierra y paredes de adobe, o de ladrillo no enlucidas. Los espacios que se generan son un hábitat favorable para los triatominos que se esconden durante el día. Los techos de las casas son de zinc o teja en su mayoría. La luz eléctrica, así como el agua potable son escasos en la zona (Villamar *et al.*, 2004; Nieto-Sanchez *et al.*, 2015).

El tamaño de las viviendas es generalmente pequeño por lo que se aprecia uno o máximo dos cuartos que muchas veces puede ser para ocho personas, entre infantes, jóvenes y adultos. No hay una separación marcada de la cocina donde por lo general mantienen cuyeras o nidos de gallinas que son otro lugar donde habitan los triatominos (Nieto-Sanchez *et al.*, 2015). Según un estudio del 2009 por el SENPLADES, el hacinamiento de la provincia de Loja, en especial en las zonas rurales sobrepasa en más de tres veces el margen aceptado.

A pesar de plantearse la meta de disminuir en un 33% este porcentaje para el año 2013, mediante el plan Nacional del Buen Vivir, aún no se ha solucionado este problema. (SENPLADES, 2009).

En la mayoría de viviendas se observa que el contacto con animales tanto domésticos, como aves de corral está altamente relacionado. En el peridomicilio se observa acumulación de basura, ladrillos, madera junto con los nidos de gallina, y cerca a los demás animales. Todas estas condiciones afectan la salud de los pobladores y favorecen el desarrollo de los vectores de la ECh (Nieto-Sanchez *et al.*, 2015).

4.2 Recolección de Triatominos en zonas sinantrópicas del Cantón Calvas

La recolección de triatominos se realizó en conjunto con personal del CIEIC, personal del SNEM de Loja y Manabí (Servicio Nacional de Erradicación de la Malaria) y voluntarios de la Universidad de Ohio. Para lo cual se siguió un protocolo de campo

aprobado por el Comité de Ética (Oficio-CBE-019-2014) de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE).

Se visitaron las viviendas en grupos de aproximadamente ocho personas, y después de la lectura del consentimiento informado y autorización del jefe de hogar (Anexo 1), se realizaron encuestas de vivienda (Anexo 2).

Se llenaron las fichas entomológicas (Anexo 3) para colocar el estatus de infestada (positiva) en el caso de encontrar triatominos o no infestada (negativa) si no se reportó la presencia de ningún triatomino, una vez examinada la vivienda.

Adicionalmente, para las búsquedas entomológicas el personal del SNEM así como los voluntarios, fueron capacitados en las normas de bioseguridad necesarias, y a cada uno de ellos se les dotó de guantes de látex, mascarillas, gorros, linternas, entre otros.

Una vez obtenida la autorización firmada y/o huella digital por parte del jefe de hogar, se utilizaron los GPS (Garmin eTrex Summit®) para el registro de las coordenadas de la vivienda, al igual que 4 fotografías de la casa, por medio de cámaras Canon (PowerShot A495) (Figura 11).

Estas búsquedas se efectuaron de manera exhaustiva en las paredes, techos, suelo de todas las habitaciones de las viviendas, camas, cocina, baños. Mientras que, en

peridomicilio, se lo realizó en amontonamientos de ladrillos, madera, y nidos de gallinas, ratas, ratones, entre otros, el tiempo de búsqueda en cada vivienda fue de 1 hora/ hombre, para posterior a esto realizar las mediciones de la vivienda y proceder a la fumigación (Figura 12) (Villacís, *et al.*, 2008).

Tras encontrar triatominos se los recolectaba en frascos de plástico con numeración única para cada punto de captura, además se colocaba la fecha y nombre de las especies recolectadas.

Posterior a esto, se quemó los nidos infestados encontrados y se realizó un rociado con insecticida piretroide Deltamethrin wettable powder (Biotrine 5%) mediante bomba Hudson Xpert, cada carga de rociado dependía del tamaño de la vivienda, para lo cual se verificaba la tabla de rociamiento a la misma que se le aplicó la fórmula siguiente: (Anexo 4) (Grijalva *et al.*, 2011, 2014).

$$\text{Aplicación de Insecticida} = 4 \times H (A+L) + (1,5 \times A \times L)$$

4: los lados de la
vivienda

H: altura

L: largo

A: ancho

1,5: constante

En el transcurso del día los grupos visitaban alrededor de 10 viviendas en total, por lo que en la noche se hacía un conteo de los triatominos, se separaban por sexos y estadios ninfales, para ser transportados al insectario del CIEIC.

Después de ser separados se les colocaba en una incubadora a temperaturas de $24\pm 6^{\circ}\text{C}$, humedad relativa de 70% y fotoperiodos de 12 horas que asemejen el día y la noche del lugar de captura (Villacís, *et al.*, 2008).

4.3 Procedimiento en el Laboratorio

4.3.1 Toma de Individuos para experimento

Se tomaron 75 individuos entre primer y segundo estadio de los parentales recolectados en el 2005 en la provincia de Loja (Jacapo-Calvas) y se los mantuvo en colonias dentro del Insectario del CIEIC de la PUCE. El número de muestras fue NI (44 individuos) y NII (31 individuos), por la dificultad de obtener ninfa I en un principio, se decidió tomar también NII.

Cada triatomino se colocó en frascos individuales donde se añadió papel filtro cortado en las puntas y doblado en forma de abanico, para un mejor desenvolvimiento de los triatominos en el frasco. Algunas especies, como *Rhodnius ecuadoriensis* que servía para la puesta de huevos dentro del frasco; el papel filtro también permite una absorción del exceso de humedad.

Además se colocó un triatomino adulto muerto que proporcione las bacterias simbiotes adecuadas para un mejor desarrollo de las ninfas (Eichel y Schaub 2002). Por seguridad, se colocó tela tipo tul sostenida por ligas para evitar que se escapen los individuos y

finalmente se cerró el frasco con una tapa previamente agujerada para permitir el paso de oxígeno.

Estos frascos fueron etiquetados, es decir, se colocó el código de la comunidad de donde fueron colectados, así como, la fecha en la que se inició el proyecto y un código único para su alimentación durante la formulación del ensayo (Oscherov *et al.*, 2004; Villacís *et al.*, 2008).

El alimento ofrecido a los triatominos provenía de sangre de *Mus musculus* mantenidos en el Bioterio del CIEIC, con certificado de manejo de animales 15-H-034 aprobado por Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC).

Estos ratones eran colocados en redes para inmovilizarlos, para luego ser colocados dentro de tinas de plástico con un alto de 20 cm y cinta doble faz en el extremo superior para evitar la fuga del insecto (Figura 13y 14) (Villacís *et al.*, 2008).

4.4 Ciclo de Vida

Durante el primer estadio de los triatominos se ofrecía alimento a diario, debido a que la localización de la vena del ratón es difícil de rastrear en un principio y a diferencia de los protocolos seguidos por Villacís (2008) y Mosquera (2013), se añadió 5 minutos, ya que en los primeros ensayos se observó que los triatominos de esta especie necesitaban un mayor tiempo para encontrar la vena.

A partir de NII, la oferta de alimento fue una vez por semana, siguiendo un orden específico semanal y mensual durante el tiempo que duró la fase experimental (Villacís *et al.*, 2008).

Para cada oferta de alimento se siguió el protocolo de Villacís, (2008) y Mosquera (2013), en los cuales se debía pesar al triatomino antes y después de la ingesta de sangre, registrando de esta manera el peso ganado, y en cuánto aumento su peso inicial. Este procedimiento se realizó en la balanza analítica (Mettler Toledo, AB54-S, Switzerland).

Otro parámetro importante fue la recolección de información relacionada con la fecha y el estadio en el que se encontraba cada triatomino, esto fue con el fin de asegurarnos su estadio ninfal, y cuánto tiempo (días) le tomó cada muda (Anexo 5). También se observó en cada uno, los vestigios de ala y la exuvia que quedaba dentro del frasco, para consolidar la información y eliminar los errores. Al finalizar el ciclo de vida de cada uno de los individuos se analizó morfológicamente el sexo del triatomino (Carcavallo, 1999).

La mortalidad de los insectos se registró en tablas de vida (Anexo 6) donde se realizaron cálculos desde el inicio del proyecto hasta la muerte de los triatominos, y se calculó el mayor y menor porcentaje de mortalidad diferenciándolo por estadio ninfal.

4.5 Hábitos de alimentación y defecación

4.5.1 Alimentación

Para establecer cuáles fueron los hábitos de alimentación de nuestro sujeto de estudio, se llevó una tabla control. En esta tabla se registró: a) tiempo de ingesta de sangre desde el ingreso de la probóscide al hospedero, hasta que termina la alimentación, b) el peso ganado en miligramos, que correspondía a la cantidad de sangre ingerida en cada ofrecimiento y c) número de ingestas de sangre que el triatomino tuvo durante todo su desarrollo, y en cada estadio ninfal.

4.5.2 Defecación

Para las deyecciones, se tomaba en cuenta dos puntos importantes que definen a un triatomino como potencial vector de la ECh, o no. En el primer punto se registró el tiempo de la primera defecación, durante la alimentación. El segundo punto, el cual permitió observar durante 20 minutos más, a cada triatomino, después de su alimentación, para contabilizar las deyecciones posteriores.

Otro dato importante que se recolectó, fue el tiempo de ayuno que cada uno de los triatominos pueden tener, para esto, se calculó el tiempo que le tomó a cada individuo por estadio ninfal, sin ingerir sangre desde su última alimentación (Anexo 7).

4.6 Análisis de los datos

Todos los datos registrados durante la fase de laboratorio, fueron ingresados en hojas de Excel (Office, 2010); para posteriormente ser analizadas para obtener la normalidad mediante Kolmogorov Smirnov (muestras con n mayores a 45), ya que esto permite comprar si dos o más muestras tienen medias iguales; esto se lo realizó con el paquete SPSS (versión20).

Para analizar la homogeneidad de varianza se realizó la prueba de Levene, de esta manera se determina si las varianzas son significativamente diferentes. De encontrarse heterogeneidad en los datos de la varianza, no se aplicó ANOVA, debido a no estimar una varianza común.

También se aplicó cálculo del coeficiente de variación (CV), que es un índice medidor de el porcentaje de error, con respecto a la media; si los resultados obtenidos con este cálculo proporcionaban valores menores a 20%, se aplicó pruebas paramétricas, análisis de varianza (ANOVA), de ser homogéneos.

En el caso de que los valores del CV, fueran mayores al 20% se transformó logarítmicamente los datos, para que los valores bajasen, y de esta manera nuevamente aplicar un ANOVA, y así poder observar la correlación mediante un Post-hoc y prueba de Tukey.

El parámetro que indica que los valores del CV deben ser menores al 20%, se aplica cuando los ensayos son bajo condiciones controladas de laboratorio (Sánchez, 2012), como es nuestro caso.

Valores altos de CV, indicarían una alta variabilidad de los datos analizados, y no se respaldaría la credibilidad de la información, en conclusión, este índice muestra la precisión con al que se llevó acabo la experimentación (Sanchez, 2012).

Las pruebas no paramétricas se aplicaron a los datos que mediante transformación logarítmica no bajaron los porcentajes menor a 20% (Sanchez, 2012).

Cálculo de CV:
$$\frac{\sqrt{CMe}}{\bar{q}} \times 100$$

CMe= cuadrado medio del error

q= Media global

Se realizaron transformaciones logarítmicas para todos los datos del ciclo de vida, como para los hábitos de alimentación y defecación; ya que nuestras variables son de crecimiento (Sánchez, 2012).

Cuando las mediciones aumentan (o disminuyen), en un determinado porcentaje, en lugar de una cantidad específica se dice que los datos son multiplicativos más no

aditivos, razón por la cual, aplicar una transformación logarítmica permite transformar en aditiva la relación multiplicativa y de esta manera el modelo lineal del ANOVA, puede ser aplicado (Sanchez, 2012).

Finalmente a todos nuestros resultados, se les calculó el intervalo de confianza al 95%, que permite estimar, los valores desconocidos con una determinada probabilidad de acierto; ya que, en experimentación con animales sometidas a cierto tratamiento (en nuestro caso es la observación y alimentación semanal), el efecto se estima mediante la media de la muestra, pero las repeticiones que se aplica durante toda la fase experimental, muestran una serie de medias diferentes, y la alternativa que soluciona este inconveniente es calcular el límite de confianza (IC), que ofrece un rango de valores más acertado de la verdadera media (Sanchez, 2011).

$$\bar{x} \pm Z_{1-\alpha/2} \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

\bar{x} : media del parámetro a ser calculado

\pm : se aplica una sumatorio o resta dependiendo del dato que se requiere obtener para límite máximo y límite mínimo

Z: obtenido a partir de la distribución, obtenido mediante el valor de α

$1 - \alpha/2$: constante, si es 0,95, el intervalo recibe el nombre de intervalo de confianza al 95%

n : el número total de individuos

σ : desviación estándar

4.6.1 Descripción de las variables

4.6.1.1 Ciclo de vida ovoposición y mortalidad de *Triatoma carrioni*

Para establecer el tiempo de vida de *T. carrioni*, se calculó entre el máximo y mínimo del número de días que le tomó a los triatomino para mudar a cada estadio ninfal. Posterior a este cálculo, se relacionó cada estadio, para establecer que estadio requirió el mayor número de días y cual el menor. Estos resultados se evidenciaron estadísticamente, utilizando el método de Kruskal-Wallis, que permitió remplazar al ANOVA, para comparar muestras de un factor. Establecer diferencias entre los resultados obtenidos por estadio ninfal (Sánchez, 2012), ya que las muestras provienen de poblaciones continuas e idénticas.

Para establecer el porcentaje de ovoposición se tomaron adultos, que completaron el experimento, entre ellos se realizó cruces, que permitieron obtener huevos, para observación diaria, desde la puesta hasta su eclosión. De esta manera, se calculó el número de días necesarios para terminar la fase de huevo. Adicionalmente, contabilizamos, los triatominos nacidos (fértil) y no eclosionados (infértil) y obtuvimos el porcentaje de natalidad y mortalidad para el estado de huevo.

Para establecer los porcentajes de mortalidad de los triatominos a partir de la NI, se calculó la mortalidad absoluta de cada estadio, es decir, el número de ninfas muertas del total de individuos que llegaron a cada estadio ninfal; esta cantidad se dividió para el número total de individuos (vivos y muertos) por estadio, y esto fue multiplicado por 100. Tal como se muestra en la siguiente fórmula:

$$\frac{\sum \text{Individuos muertos}}{\text{Total de individuos}} \times 100 = \text{mortalidad}$$

4.6.1.2 Para hábitos de alimentación y defecación.

Se calculó: a) el tiempo que necesitó cada espécimen para alimentarse, b) la cantidad de sangre ingerida en cada ofrecimiento, c) el número de veces que se alimentó por estadio ninfal, y d) cuántas veces aumentó su peso.

a) Tiempo de alimentación

Para este parámetro se calculó el tiempo que le llevó alimentarse, desde el ingreso hasta la salida de la probóscide de la vena del hospedero.

b) Cantidad de sangre ingerida

Se pesó al triatominos antes de la oferta de alimento y después de la misma. Este se calculó en miligramos (**peso final - peso inicial**)

c) Número de veces que se alimentó por estadio

Se registró el número de veces que el triatomino se alimentó durante cada estadio ninfal (no cada vez que se ofertó el alimento, si no cada momento que este completaba su ingesta de sangre).

d) Veces que aumento su peso (Expansión corporal)

Este parámetro se realizó a la par de los miligramos ingeridos, pero para este punto se observó, cuanto fue el peso que ganó cada individuo después de la ingesta de sangre (**peso final / peso inicial**)

Para la defecación de *T. carrioni* se observó: a) el número de deyecciones durante la alimentación y b) 20 minutos posterior a la misma.

Al finalizar se calculó para todos los datos Intervalo de Confianza (IC) del 95%, para lo cual se aplicó la siguiente formula estadística:

$$\bar{x} \pm Z * s / \sqrt{n}$$

\bar{x} : media del parámetro a ser calculado

\pm : se aplica una sumatorio o resta dependiendo del dato que se requiere obtener para límite máximo y límite mínimo

Z: obtenido a partir de la distribución, obtenido mediante el valor de α

α : 1- nivel de confianza (95%)

s: desviación estándar

rT: raíz de tamaño de la muestra

5. RESULTADOS

5.1 Ciclo de vida de *Triatoma carrioni* bajo condiciones de laboratorio

Triatoma carrioni, completó su desarrollo biológico en $433,9 \pm 189,4$ días. Es decir es considerada una especie anual.

El primer estadio (NI) tomó $27,4 \pm 16,63$ días, aproximadamente un mes para desarrollarse y pasar al segundo estadio ninfal (NII). Este segundo estadio se demoró en mudar un promedio de $51,8 \pm 28,0$ días. Para el tercer estadio ninfal (NIII) se observó un promedio de $58,9 \pm 24,8$ días, similar al segundo estadio ninfal. A partir del cuarto estadio (NIV) el tiempo que les tomó a los individuos fue mucho mayor, observándose en NIV un promedio de $121,8 \pm 52,0$ días para poder pasar de estadio. Finalmente los triatominos que llegaron a NV mostraron los periodos más largos de muda con un promedio de $145,2 \pm 63,2$ días (Figura 15).

Al finalizar todo el desarrollo de *T. carrioni* de los 75 individuos, 22 completaron el ciclo, de los cuales 12 fueron machos y 10 hembras. Para continuar el estudio y obtención de huevos se procedió a realizar cruces entre los individuos que completaron su ciclo de vida. De esta manera, se determinó el tiempo que demora la eclosión del huevo desde la puesta.

Las hembras que pusieron los primeros huevos lo hicieron a partir del día cuatro al sexto, después del apareamiento; los primeros huevos es decir, aquellos que fueron colocados en la primera puesta, no fueron viables, mientras que los huevos colocados a partir del día siete, si lo fueron.

El número de huevos “n” obtenido de cuatro hembras, durante una semana de observación fue de 68 huevos, que tomaron un promedio de $29,0 \pm 4,9$ días para su eclosión. El tamaño de los huevos fue aproximadamente de 1mm de ancho por 2 mm de largo y muestran una coloración blanquecina. Cambian de color a un tono rosado previo a la eclosión.

Una de las características notables en los triatominos, reveló que cada individuo independientemente de su estadio ninfal, debe alimentarse, por lo menos una vez antes del proceso de ecdisis.

En esta especie en particular se observó que los individuos de NI, NII y NIII se alimentaron dos veces al mes, mientras los individuos de NIV necesitaron tres ingestas antes de mudar. Finalmente, los triatominos de NV necesitaron cinco alimentos, para poder mudar a adultos.

Las pruebas estadísticas aplicadas, para el ciclo de vida, fueron no paramétricas por observarse que no todos los datos presentaron normalidad $p < 0,001$, para lo cual se

aplicó la prueba de Kruskal Wallis, siendo las diferencias altamente significativas entre los estadios ninfales $p < 0,001$ (Tabla 1) (Anexo 8).

5.1.1 Mortalidad de *Triatoma carrioni*

Triatoma carrioni muestra diferencias en cuanto a mortalidad, en el primer (NI) y último estadio ninfal (NV), evidenciándose en estos dos estadios los porcentajes más elevados de muertos.

De los 68 huevos obtenidos, eclosionaron 54 huevos, es decir, se obtuvo una mortalidad de 20,9%. En el caso de NI el porcentaje de mortalidad fue el mayor de todo el ciclo, ya que presentó un 41,3%, NII mostró un 27,3%, NIII un 14,6%, mientras el menor porcentaje de mortalidad fue NIV con 9,8%. Finalmente, NV presentó la segunda tasa de mortalidad después de NI, ya que reveló un 40,5%.

El número total de individuos que completaron la fase experimental fue de 22 individuos, de los cuales 12 fueron machos en $445,8 \pm 98,8$ días y 10 hembras en $307,9 \pm 81,3$ días (Figura 16) (Tabla 2).

5.2 Hábitos de alimentación y defecación de *Triatoma carrioni* en laboratorio

5.2.1 Hábitos de alimentación

Para el análisis de alimentación de *T. carrioni* bajo condiciones controladas de laboratorio se consideró: a) Tiempo de alimentación, b) Tiempo en el que ingreso la

probóscide al hospedero, c) Porcentaje de sangre ingerido por cada ofrecimiento de alimento, y finalmente d) veces de aumento peso de cada triatomino después de la ingesta de alimento.

5.2.1.1 Tiempo en el que ingresó la probóscide al hospedero

El objetivo de este parámetro es determinar qué tiempo le lleva a esta especie encontrar la vena del hospedero, NI encontró la vena del ratón en un tiempo de $8,2 \pm 4,4$ minutos, NII introdujo su probóscide en $9,3 \pm 6,9$ minutos, mientras NIII a los $10,9 \pm 8,6$ minutos; NIV= $11,5 \pm 3,5$ minutos fueron necesarios para el ingreso de su probóscide y finalmente NV= $10,0 \pm 4,9$ minutos (Figura 18) (Tabla 4).

Los análisis estadísticos, revelaron que los datos no fueron normales $p < 0,001$, por lo que se decidió aplicar el cálculo del CV, y este nos dio un valor de 57%, se transformó los datos logarítmicamente, pero no disminuyó a menos del 20%, por lo que se realizó una prueba no paramétrica (Kruskal Wallis) que dieron como resultado un $p = 0,47$; indicando que las diferencias entre los estadios ninfales en cuanto al ingreso de la probóscide no son estadísticamente significativas (Anexo 10).

5.2.1.2 Tiempo de alimentación

Los datos obtenidos en este procedimiento, mostraron mediante la prueba de homogeneidad, de Kolmogorov-Smirnov un $p < 0,001$, indicando que no existe

normalidad. Al aplicar la prueba de homogeneidad de varianza para igualdad (Levene) indicó un $p=0,108$, mostrando que no existe igualdad de varianzas.

Posterior a esto se realizó el cálculo de CV, y nos dio un valor de 50,8; por lo que se realizó transformación de datos logarítmicos, bajando el CV a 16,6. Se ajustó a la valores menores a 20% y se procedió a realizar un ANOVA, indicando una significancia de $p<0,001$.

Posterior a esto se realizó un Post hoc mediante la prueba de Tukey evidenciándose que se forman tres grupos, donde el estadio NI y NII, forman el primer grupo; el segundo estadio también se comparte con en estadio NIII y NIV, para formar el segundo grupo, y finalmente, el tercer grupo lo conforma NIII, NIV, y NV (Anexo 9).

El tiempo que necesitó NI fue de $20,6\pm 11,3$ minutos para ingerir todo lo necesario, mientras NII aproximadamente $27,4\pm 13,6$ minutos, NIII $31,0\pm 19,8$ minutos, y NIV $34,5\pm 11,3$ minutos (Figura 17).

También se pudo observar que en los últimos estadios ninfales (NIV y NV) el periodo de ayuno fue más prolongado, con un tiempo aproximado de dos meses sin ingerir alimento (Tabla 3).

5.2.1.3 Cantidad sangre ingerida en mg. y peso aumentado

Los triatomos NI ingirieron aproximadamente $2,9 \pm 3,3$ mg cuando su peso inicial fue de $2,8 \pm 1,7$ mg y su peso final fue $6,9 \pm 3,2$ por lo que se observa que el aumento de su peso es de 1,45mg, y la expansión de casi tres veces el peso inicial.

NII ingirió un promedio de $12,7 \pm 12,6$ mg. Su peso inicial fue de $5,4 \pm 4,6$ mg y su peso final de $18,2 \pm 16,4$ mg; observando que las veces que aumentó su peso fue casi tres veces.

Para NIII el peso inicial fue de $8,30 \pm 18,2$ mg, su peso final de $36,1 \pm 2,6$ y después de su alimentación. El peso de sangre ingeridos fue $25,4 \pm 15,6$ mg que son 4,2 veces expansión corporal.

NIV comenzó con un peso de $25,5 \pm 13$ mg, su peso final fue de $88,9 \pm 27,6$ y el peso de sangre fue $63,4 \pm 14,7$ mg por lo que las veces aumentó su expansión corporal fue de 3,85 veces.

NV inició pesando aproximadamente $45,6 \pm 23,2$ mg y al terminar su alimentación, el total de mg de sangre ingeridos fue de $107,9 \pm 65,2$, ya que su peso final fue de $153,5 \pm 74,9$ mg lo que indica que el aumento corporal es de 3,49 veces (Figura 19).

Al igual que el parámetro anterior este valor no mostró normalidad $p < 0,001$ de datos, al calcular la homogeneidad de varianza el $p = 0,216$.

Se realizó Kruskal Wallis ($p = 0,47$), lo que nos enseña que existen diferencias altamente significativas en cuanto a la cantidad de sangre ingerida dependiendo de su estadio ninfal (Anexos 11 y 12).

5.3 Hábitos de defecación de *Triatoma carrioni*

Los datos registrados para deyecciones no mostraron normalidad de los datos, por lo cual se aplicó cálculo del CV, para ajuste de valores menores al 20%. A pesar de calcular logarítmicamente, los valores no entraron en el ajuste deseado, razón por la cual se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis con una significancia de $p < 0,001$, interpretado, como diferencias altamente significativas en cuanto a las deyecciones por estadio ninfal de *Triatoma carrioni*, tanto para la información recolectada durante la alimentación, y posterior a la misma.

En todos los estadios ninfales el mayor porcentaje de defecación se dio durante la alimentación, es así el caso de NI que presentó 33,3% de individuos que defecaron del total de triatominos que se alimentaron y apenas 4,5% posterior a la alimentación. El restante es decir, el 59,2% del total de individuos de primer estadio no defecaron durante la observación.

En segundo estadio ninfal (NII) el 16,9% fue el promedio de individuos que defecaron durante la alimentación, versus un 13,8% que lo hicieron posterior a la alimentación.

Para el tercer estadio ninfal (NIII) se observó un 28,1% de individuos que defecaron durante la alimentación, es decir, los triatomíneos que defecaron posterior a la misma son apenas el 8,4%.

El cuarto estadio ninfal (NIV), mostró el mayor porcentaje de defecación de todos los estadios ninfales durante la alimentación con un 60,9% de individuos, frente a 4,8% de individuos que realizaron sus deyecciones a los 20 minutos posteriores a la alimentación.

Finalmente, el último estadio ninfal es decir, NV no mostró individuos que defecaran posterior a la alimentación, en este estadio sólo se registró durante la alimentación y el porcentaje fue de 29,7%, el resto de individuos, es decir el 70%, o no se alimentaron correctamente por lo que no realizaron las deyecciones o lo hicieron después de los 20 minutos de observación (Figura 20) (Tabla 5 y 6).

6. DISCUSIÓN

Triatoma carrioni ha reportado su presencia tanto para domicilio como para peridomicilio en la Provincia de Loja, donde se obtuvieron los parentales de los triatominos de estudio. Estos individuos fueron recolectados específicamente en el Cantón Calvas, en la comunidad de Jacapo (Grijalva *et al.*, 2015).

Las comunidades de esta zona están catalogas dentro de una área de poco acceso, que además no cuentan con condiciones básicas como agua potable, luz, o vías de acceso, por lo que se dice que pertenecen a zonas de pobreza (INEC, 2015).

El hábitat donde el hombre se desarrolla habitualmente ha permitido un fácil acceso del triatomino al hogar; ya que las viviendas no poseen paredes enlucidas, ni pisos de cemento, propiciando de esta manera que el insecto se esconda entre los agujeros formados por el adobe o ladrillo. Otra de las causas principales para que el triatomino ingrese a las casas es que el hombre comparte la vivienda con animales domésticos pequeños del que se alimentan estos triatominos hematófagos (Nieto-Sanchez *et al.*, 2015).

En América Latina estudios sobre ciclos de vida y eficacia vectorial han ayudado en diferentes departamentos gubernamentales, además de ministerios de salud para un control de las diversas especies como es el caso de *Triatoma dimidiata* (Reyes y Angulo, 2009; Zeledón *et al.*, 2001). Específicamente en Ecuador se ha estudiado a

pocas especies de triatominos con un enfoque a la salud, es así que en el año 2008 se presentó el primer estudio sobre ciclo de vida y hábitos de alimentación y defecación de la especie *Rhodnius ecuadoriensis* de las provincias de Loja y Manabí (Villacis *et al.*, 2008) y en el año 2013 se realizó el segundo estudio de ciclo de vida con *Panstrongylus chinai* que se distribuye en la provincia de Loja (Mosquera, unpublished data).

6.1 Ciclo de Vida

Triatoma carrioni es una especie anual, evidencia sustentada en el presente estudio, ya que su desarrollo finalizó en $433,9 \pm 189,4$ días bajo condiciones controladas en el laboratorio, las cuales son más estables. Este tiempo puede variar en el ambiente natural, ya que los triatominos no tendrían las mismas facilidades ofrecidas en la investigación (Martínez-Ibarra *et al.*, 2008).

En nuestro país existe la presencia de tres géneros; los cuales son: *Rhodnius*, *Panstrongylus* y *Triatoma* (Grijalva *et al.*, 2014), de los cuales se ha estudiado una especie por género en el CIEIC, para estudios de ciclo de vida; por lo que, los resultados difieren en el número de días, que cada uno necesitó para completar su desarrollo biológico; a pesar de que las tres especies se encuentran distribuidas en Loja (Grijalva *et al.*, 2015).

Es el caso de *Rhodnius ecuadoriensis*, este triatomino completó su desarrollo según Villacís *et al.*, (2008) en 193,5 días. Es decir en apenas seis meses, demostrando que es

una especie semestral, a diferencia de la segunda especie estudiada, que fue *Panstrongylus chinai* la cual completó su desarrollo en $371 \pm 22,3$ días, indicando que también es una especie anual o univoltina (Mosquera, unpublished data). Cabe recalcar, que estas especies también fueron colectadas en la provincia de Loja, y comparten los mismos hábitats (Grijalva *et al.*, 2015).

Según estudios realizados por Canale *et al.*, (1999), los insectos del género *Triatoma*, bajo condiciones controladas de laboratorio, culminan su desarrollo entre seis a 15 meses por lo que nuestra especie de estudio entra dentro de estos parámetros de investigación.

Al comparar nuestra especie con un estudio realizado para *Triatoma dimidiata*, se puede observar que existe similitud en algunos estadios ninfales. Esta especie completa su desarrollo en apenas nueve meses con 269 días (Reyes, 2009).

Hay que tomar en cuenta que el procedimiento que se realizó para esta especie fue diferente a la realizada en nuestro estudio con *T. carrioni*, ya que para *T. dimidiata* se utilizó sangre de gallina y se ofreció el alimento cada 15 días, es decir solamente dos veces al mes, al contrario de *T. carrioni* donde se le ofreció sangre de ratón cada semana, es decir cuatro veces al mes.

Por otra parte, cuando se compara con *Triatoma ryckmani*, especie endémica de Guatemala y que comparte el mismo género de estudio a pesar de encontrarse fuera del grupo *rubrofasciata* y del complejo *dispar* que es al que pertenece *T. carrioni* (Lent & Wygodzinsky, 1979).

Se observa una gran semejanza en ciclos de vida, ya que esta especie es anual, completando su desarrollo en 392,5 días; además, durante la fase experimental, los triatomos fueron alimentados con roedores, al igual que en nuestro estudio (Zeledón *et al.*, 2010).

Respecto a los estadios ninfales y al tiempo de muda en *T. carrioni* se muestra un aumento directamente proporcional, es decir, mientras más avanzado en el desarrollo ninfal se encuentra, mayor será el tiempo que necesite para mudar.

Este parámetro, de relación directamente proporcional, en cuanto al estadio ninfal y el número de días, para la muda se corrobora por las investigaciones previas con *T. dimidiata*, *T. lenti*, *P. chinai*, *P. geniculatus*, *T. ryckmani* (Canale *et al.*, 1999, Mosquera, in press; Zeledón *et al.*, 2010).

Los huevos necesitan aproximadamente un mes ($29,0 \pm 4,9$ días) para su eclosión y al igual que muchas especies de insectos no necesitan de ningún cuidado parental. Otra observación con las especies que se mantienen en el CIEIC, es que a diferencia de los

huevos de *Rhodnius ecuadoriensis* que son colocados sobre el papel filtro por sus parentales (Villacís *et al.*, 2008). *Triatoma carrioni* los coloca sobre la superficie del envase. Esta característica fue visible durante la fase de campo ya que *T. carrioni* y *P. chinai*, botan los huevos en el suelo, y son difíciles de observar y coleccionar. Los huevos de *R. ecuadoriensis* son puestos sobre las paredes y/o en las tablas de camas lo que hace más fácil su observación.

El primer estadio ninfal necesita un promedio de $27,4 \pm 16,6$, durante este periodo se observó que es el estadio ninfal con el mayor porcentaje de mortalidad de 41,3%, esto se puede explicar por la dificultad del triatomino para la localización de la vena del hospedero, además del tamaño de la probóscide (Martínez-Ibarra y Kathain-Duchateau, 1999).

Por esta razón es que las poblaciones de *Triatoma carrioni* deben tener un tamaño de población mayor, es decir, mayor número de huevos por hembra, ya que de esta manera la probabilidad de sobrevivencia se eleva a pesar de tener un alto porcentaje de mortalidad (Barreto *et al.*, 2011). Esta tendencia se observó también para la especie *Triatoma pallidipennis*, al igual que para los géneros estudiados de *Panstrongylus* y *Rhodnius* (Cabello y Galíndez, 1998; Barreto *et al.*, 2011).

Esta explicación detallada anteriormente nos permite entender la colonización de *T. carrioni* hacia nuevas áreas; es decir de peridomicilio a domicilio, ya que al haber un mayor número de individuos que necesitan alimentarse con sangre para su desarrollo,

estos deben colonizar o buscar ambientes propicios para establecerse y sobrevivir (Grijalva *et al.*, 2005b). De esta manera, se fomenta de forma accidental el contacto con el hombre. Es importante recalcar, que esta especie no reporta ningún hallazgo en el hábitat silvestre del Ecuador (Grijalva *et al.*, 2005b), ni de nuestro país vecino, Perú.

El segundo estadio ninfal indica un mayor porcentaje de tiempo con un promedio $51,7 \pm 28,0$ días. Es decir aproximadamente un mes y medio, tiempo que necesita el individuo para realizar su metamorfosis y durante el cual el porcentaje de mortalidad baja a 27,8%.

El tercer estadio ninfal completó su desarrollo biológico en un promedio $58,9 \pm 24,8$ días, aproximadamente dos meses y la mortalidad es de apenas 14,58%. Observándose que disminuye drásticamente este parámetro; esto se puede explicar por las estructuras fisiológicas y morfológicas del insecto, ya que una probóscide más fuerte es observada. Además, la identificación de la vena del hospedero es más efectiva por la experiencia adquirida durante los estadios ninfales anteriores (Martínez-Ibarra y Katthain-Duchateau, 1999).

El cuarto estadio ninfal tomó un mayor número de días para su desarrollo con un promedio de $121,6 \pm 52,0$ días, aproximadamente cuatro meses, pero a su vez también fue el estadio que mostró menor porcentaje de mortalidad 9,8%. Al igual que para estudios realizados de *Triatoma dimidiata*, *T. rubida* y *T. recurva*, se mostró un

aumento de hasta el doble de tiempo en relación a los primeros estadios ninfales (Reyes y Angulo, 2009).

La dificultad en la alimentación de la mayoría de especies de triatomíneos explica la prolongación del tiempo de desarrollo, debido a su capacidad para el ayuno (Zeledón, 1983).

En *T. carrioni*, se observó que pueden resistir hasta dos meses sin ingerir alimento, razón por la que los sistemas neurosecretorios responden a la señal activadora del alimento sanguíneo y en ausencia de este estímulo, se afecta el desarrollo (Friend y Smith 1985; Zeledón *et al.*, 1977).

Resultados similares mostró NV, que reflejó el mayor porcentaje de todos los estadios ninfales para realizar su metamorfosis con un promedio de $145,2 \pm 63,2$ días, casi cinco meses. La diferencia de este estadio ninfal con respecto al resto de estadios ninfales, es un aumento de la mortalidad con 40,5%, indicando de esta manera que el ayuno en este caso en particular, no determina el aumento de tiempo para la ecdisis, sino los cambios morfológicos que debe sufrir el triatómino para cambiar toda su estructura de ninfa y convertirse en adulto con diferenciación sexual y forma alar (Barreto *et al.*, 2011; Cabello y Galíndez, 1998; Martínez-Ibarra y Kathain-Duchateau, 1999).

Es necesario mencionar que los plazos de muda para NIV y NV, fueron los estadios más prolongados al igual que la especie *Triatoma rickmani*, por lo que se propone medir la media para estos dos estadios, por separado, encontrando similitudes mayores con esta especie, caso que no ocurre con las medias de NIV y NV de otras especies como *T.*

flavida, *T. nitida*, *T. maculata*, *T. klugi*, *T. gerstaeckeri*, *T. lecticularia*, *T. protracta*, *T. mexicana*, *T. dimidiata*., mientras que para otros géneros (*Rhodnius* y *Panstrongylus*) *Rhodnius neglectus*, *R. brethesi*, *R. ecuadoriensis* y *Panstrongylus rufotuberculatus* se ha encontrado que difieren en cuanto a la media (Zeledón *et al.*, 1970, Galvão *et al.*, 1995, Cabello y Lizano 2001, Emmanuelle- Machado *et al.*, 2002, Rocha *et al.*, 2004, Wolff *et al.*, 2004, Luitgards- Moura *et al.*, 2005, Zeledón *et al.*, 2005 Martínez-Ibarra *et al.*, 2008, Villacís *et al.*, 2008).

Evidenciándose de esta manera, que en el género *Triatoma* las especies que son consideradas anuales y que, necesitarán periodos más prolongados en sus últimos estadios.

Como bien se indicó en la metodología de la investigación, los individuos de *T. carrioni* analizados, son de laboratorio, por lo que la endogamia producida por los mismos es alta. Este parámetro a considerar podría variar en poblaciones sinantrópicas y silvestres (Canale *et al.*, 1999). Además, es complicado comparar con varias especies dentro del mismo género por las diversas metodologías utilizadas en cada laboratorio como: procedencia de alimento o condiciones ambientales. Sin embargo, los parámetros claves para un buen desenvolvimiento de los insectos se ha visto y comparado con otros estudios puntualizando que la temperatura y humedad son factores influyentes para la culminación eficaz de ciclos de vida (Guarneri *et al.*, 2000, Emmanuelle-Machado *et al.*, 2002, Damborský *et al.*, 2005; Martínez-Ibarra *et al.*, 2008).

6.2 Hábitos de alimentación y defecación

Los triatominos, dependiendo de su estadio ninfal, del género e incluso de la especie, muestran diferente comportamiento en cuanto a su alimentación y defecación.

6.2.1 Alimentación

La alimentación en *Triatoma carrioni* se relaciona directamente con el estado de madurez y avance genealógico del estadio ninfal, al igual que la mayoría de especies de triatominos estudiados en Latinoamérica (Carcavallo *et al.*, 1999).

Durante los primeros estadios ninfales, los triatominos necesitaron menor cantidad de sangre a diferencia de los estadios más avanzados. Esto se pudo evidenciar también con otras especies estudiadas por Mosquera unpublished data (*P. chinai*) y Villacís *et al.*, (2008) (*R. ecuadoriensis*).

En primer estadio ninfal (NI) el ingreso de la probóscide en el hospedero se dio al minuto $8,3 \pm 4,4$ y se alimentó por un periodo de $20,6 \pm 11,4$ minutos ingiriendo $2,9 \pm 3,3$ mg de sangre, aumentando su peso en aproximadamente tres veces para finalmente, defecar durante la alimentación en 36,3%; a diferencia de 4,5% de los triatominos que defecaron posterior a la alimentación (20 minutos). Según los estudios realizados por Mosquera *et al.*, (unpublished data) una diferencia en cuanto al tiempo que le lleva a *P. chinai* el ingreso de la probóscide lo hace en apenas 2,3 minutos, pero se observa una disminución del tiempo de alimentación ya que este reporta $16,3 \pm 7,2$ minuto del total de

tiempo para finalmente ingerir $8,4 \pm 2,6$ mg de sangre, evidentemente mucho más efectivo en todos los estadios ninfales que nuestra especie de estudio.

En el último estadio ninfal se encontró que el alimento ingerido es mucho mayor. Con $107,9 \pm 65,2$ mg de sangre y el tiempo para encontrar la vena del hospedero es de $10,0 \pm 5,0$, nuevamente contrastando con resultados obtenidos para especies que son anuales se observa menor eficacia que *P. chinai* con $480,3 \pm 190,6$ mg de alimento y un tiempo de localización de la vena de $7,0 \pm 3,2$ min., al igual que para una especie semestral como es *R. ecuadoriensis* que en el último estadio ninfal presenta una ingesta de alimento de 129 ± 88 mg de sangre con solo $7,4 \pm 3,0$ min. para encontrar la vena del hospedero (Villacís *et al.*, 2008).

La cantidad necesaria de alimento depende de la especie, además, de las condiciones ambientales, el estadio ninfal e incluso la fuente de alimento ofertada a cada uno. En términos de eficacia vectorial mientras menos sea el tiempo que le lleve la alimentación, mayor será su eficacia. Es fundamental tomar en cuenta el tiempo que le toma la introducción de la probóscide y el tiempo en el cual defeca.

Además es necesario considerar el porcentaje de infección por *T. cruzi*. En *Triatoma carrioni* se ha reportado el índice de infección de 4,5% que comparado con *Rhodnius ecuadoriensis*, este último presenta 29,7% de infección por *T. cruzi* (Grijalva *et al.*, 2015); a pesar de que *T. carrioni* tiene un menor porcentaje de infección, comparado con las otras especies (*R. ecuadoriensis*, *P. chinai*). Los controles vectoriales se inclinan

solo para *R. ecuadoriensis*, que actualmente es el principal vector de la ECh; *T. carrioni* podría ocupar los nichos de la primera especie en la provincia de Loja de donde es endémica la especie, y su índice de infección en poblaciones humanas podría aumentar.

A más de causar el contagio de la ECh, en poblaciones humanas, este vector podría causar otro tipo de enfermedades como anemia. Se ha validado en este estudio, un solo individuo puede ingerir un promedio de 0,022 litros de sangre en un lapso de hasta 40 min., quiere decir que una colonia de cinco individuos en un ambiente domiciliario consumiría 0,11 litros de sangre, si estos individuos tienen periodos prolongados de ayuno consumirían sangre quincenalmente afectando mensualmente en 0,22 litros de sangre, que en el caso de infantes y menores de siete años sería perjudicial.

Este caso hipotético utilizado aquí, solo hace referencia a cinco individuos, pero como se ha observado en el presente estudio las colonias son más abundantes, ya que en su vida fértil las hembras pueden llegar a poner hasta 1400 huevos, de los cuales por lo menos el 50 % será viable (Carcavallo, *et al.*, 1999).

6.2.2 Defecación

La defecación es el principal indicador en la determinación de efectividad de los vectores de la enfermedad de Chagas.

Triatoma carrioni defecó durante todos los estadios ninfales hasta completar su desarrollo mientras se alimentaba. Los resultados evidencian que en todos los estadios el porcentaje de defecación es mayor durante la ingesta de alimento, mostrando un aumento de eficacia en el cuarto estadio ninfal NIV con 60% de los individuos que defecaron.

El estadio ninfal que mostró menor porcentaje de defecación durante la alimentación, fue el segundo (NII) con 16,9%. Comparándolos con diferentes especies estudiadas en el mismo laboratorio podemos observar que difieren completamente los hábitos de defecación puesto que en *P. chinai* el mayor porcentaje de defecación durante la alimentación se observó en NII con (78,3%).

El menor porcentaje se observó en NI con (62,50%) (Mosquera unpublished data). Según Aldana y Lizano (2004), los triatomíneos del mismo género indican variabilidad en la defecación como es el caso de *T. maculata* donde se demuestra que el mayor éxito en deyecciones presenta el tercer estadio ninfal (NIII) con 62% (Aldana y Lizano, 2004); lo que sugiere que no importa la especie, ni el estadio ninfal de los individuos, si estos portan el parásito *T. cruzi* son potenciales vectores de la enfermedad desde NI hasta adultos.

A pesar de que los porcentajes obtenidos para las deyecciones posteriores a la alimentación en todos los estadios ninfales fue menor para *T. carrioni*, esta información puede ser de interés para el diseño de estrategias de control de vectores en la provincia

de Loja, que aunque podría ser un vector secundario, es pertinente el conocimiento de sus potencialidades como sucesor del principal vector actual, que es *R. ecuadoriensis*.

Por la diversidad de especies que tenemos en nuestro país, y en general en Latinoamérica es necesario un manejo eficiente de control biológico en las zonas donde se reporta la presencia de triatominos.

Las capacidades de cada insecto hematófago causante de la ECh depende mucho de las condiciones y hábitat donde estos co-habiten con el hombre, por ello, el estudio minucioso y por separado de cada especie efectiviza un mejor enfoque a la salud.

Como se pudo observar durante todo este trabajo, las características que definen a cada vector son diferentes en cada género, más aún entre especies, y tratar a todos los vectores con una metodología de control similar, con periodos de aplicación de insecticidas piretroides cada cierto tiempo, a pesar de tener ciclos de vida diferentes (univoltinos o voltinos), no aporta para la meta final de eliminación vectorial, y más aún control de la enfermedad de Chagas en nuestro país.

7. CONCLUSIONES

Al finalizar el presente trabajo de investigación se obtuvieron resultados de gran significancia para el área de entomología médica de nuestro país y en general de Latinoamérica donde aqueja la ECh.

Los resultados finales indicaron que *Triatoma carrioni* bajo condiciones controladas de laboratorio, es una especie anual que finaliza su desarrollo en $433,9 \pm 189,4$ días desde la puesta de huevo hasta convertirse en adulto, que es reproductivamente eficiente, además de tener un número de huevos viables del 54% por cada hembra, incrementándose el número de las poblaciones sinantrópicas significativamente.

Para cada ecdisis de estadios ninfales necesitó de por lo menos una ingesta de sangre, también se observó que cada estadio ninfal requirió un mayor número de días para completar su desarrollo ninfal, tal fue el caso que en NI apenas se demoró un mes en su proceso de muda mientras, en NV necesitó aproximadamente cinco meses.

El periodo de mortalidad con mayor porcentaje en esta especie se observó en NI y NV, que se explica mediante la bibliografía revisada y que coincide con las demás especies del género *Triatoma*, independientemente de la especie. En NI el problema radica en la localización de la vena del hospedero (*Mus musculus*), ya que se dificulta la entrada de la probóscide, y por lo tanto, la ingesta de alimento; por lo que se concluye que en este

estadio prácticamente mueren por inanición. Mientras que en el estadio NV de los triatominos, los cambios externos e internos que morfológicamente debe sufrir el insecto para desarrollar su genitalia y completar su desarrollo alar evitan que la mayoría de individuos sobrevivan a la muda.

El tiempo de alimentación de los triatominos es directamente proporcional al estadio ninfal, es decir a mayor estadio ninfal, mayor es el tiempo que necesita para alimentarse, comenzando con NI en un tiempo de $20,6 \pm 11,4$ min. hasta llegar a NV donde su tiempo de alimentación incrementa a $36,5 \pm 17,1$ min.

La cantidad de sangre ingerida en miligramos para *Triatoma carrioni* es directamente proporcional al tiempo de alimentación, es decir mientras mayor es el desarrollo del triatomo, mayor es la cantidad de sangre que consume, debido a la capacidad de expansión de su abdomen. NI presentó un consumo de $2,9 \pm 3,3$ mg. de sangre y el último estadio ninfal NV consumió $107,9 \pm 65,2$ mg de sangre.

Los consumos de sangre evidenciaron que esta especie puede aumentar hasta tres veces su peso en la mayoría de estados ninfales pero en el tercer estadio ninfal (NIII), se registró que pueden aumentar hasta cuatro veces su peso total.

Finalmente, el parámetro más importante en la eficacia vectorial, es la defecación de los triatominos. En esta especie en particular demostró ser mucho mayor durante la ingesta

de alimento, por lo que la convierte en un vector potencial. Si estos insectos son portadores de *T. cruzi* desde que son NI, es necesario un control entomológico y/o vigilancia eficiente de *Triatoma carrioni*.

A pesar de no ser el principal vector de la ECh, en la provincia de Loja, los resultados de Grijalva *et al.*, 2015, indican que este podría llegar a ocupar el mismo nicho que la principal especie, *R. ecuadoriensis*, si el control vectorial no se aplica para cada una de las especies que habitan en la zona, al igual que para *P. chinai*.

8. RECOMENDACIONES

Para próximos estudios de ciclo de vida, y eficacia vectorial de triatominos hematófagos causantes de la ECh en Latinoamérica, se recomienda aumentar el “*n*” de ninfas NI, ya que al tratarse de seres vivos no se controla la mortalidad en los insectos, y al finalizar el proyecto investigativo apenas concluyeron el 29% de individuos, es decir 22 triatominos (10 machos y 12 hembras), por lo que un mayor número de individuos aumentaría también el total de triatominos vivos al finalizar el estudio.

Con respecto a la temperatura en la que se mantienen a los triatominos en las incubadoras debe ser regulado periódicamente. Los cambios bruscos en condiciones físicas, como la temperatura, humedad e incluso horarios de fotoperiodos pueden afectar los periodos de muda. Al igual que los comportamientos alimentarios y de defecación, ya que malas condiciones no asegurarían el microclima similar al de sus condiciones naturales.

Debido a la capacidad de colonización de los triatominos a nuevos ambientes, se recomienda el estudio de ciclos de vida, identificando claramente el hábitat al que pertenecen, de esta manera se demostraría si la especie de estudio tiene menor o mayor contacto con el hombre y otros vertebrados, facilitando así el control de la fuente de alimento preferencial para cada hábitat.

En nuevos estudios de ciclo de vida, la utilización de sujetos control que sean alimentados con diferente tipo de sangre (aves, mamíferos más grandes y/o métodos artificiales de alimentación) permitirán establecer si los periodos de muda se ven afectados por la temperatura de la sangre o el donante de la misma; determinando si los tiempos de ayuno de cada especie están relacionados con la fuente de alimento y las proteínas que contiene cada uno de ellos.

Finalmente, es recomendable un estudio de ciclo de vida de las 16 especies reportadas para Ecuador como vectores de la ECh, ya que es un aporte valioso para cada una de las localidades. Se podría realizar proyectos conjuntos con los diferentes Ministerios (MSP, MAE, Turismo, etc.), para aplicar un adecuado y eficaz control vectorial, a través de varias áreas de acción, de esta manera, también se evitaría que especies que no ocupen nichos sinantrópicos, reemplacen especies de este tipo de hábitats.

9. LITERATURA CITADA

Abad-Franch F, Aguilar V. MH. (2000). Control de la enfermedad de Chagas en el Ecuador. Datos y reflexiones para una política de estado. Revista del Instituto Juan Cesar García 10(1/2):12-32

Abad-Franch F, Paucar CA, Carpio CC, Cuba CA, Aguilar VHM, Miles MA. (2001). Biogeography of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) in Ecuador: implications for the design of control strategies. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 96: 611-620.

Abad-Franch F, Pavan Márcio G, Jaramillo N, Palomeque F S, Dale C, Chaverra D, Monteiro F A. (2013). *Rhodnius barretti*, a new species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) from western Amazonia. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 108(Suppl. I): 92-99

Aguilar, H.M., Abad-Franch F., Guevara, A.G., Racines, V. J., Briones, L.A., Reyes, L.V. (2001). Guía operacional para el control de la enfermedad de Chagas en el Ecuador. FASBASE- Ministerio de Salud Pública del Ecuador, Quito, Ecuador.

Aldana, E. & Lizano E. (2004). Defecation index and reproductive success of *Triatoma maculata* (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. Revista de Biología Tropical, 52: 927-930.

Alves, M.J., Mortara, R.A. (2009). A century of research: what have we learned about the interaction of *Trypanosoma cruzi* with host cells? Mem. Inst. Oswaldo Cruz 104 (Suppl. I), 7688.

Andrade LO, Andrews NW. (2005). The *Trypanosoma cruzi* host-cell interplay: location, invasion, retention. Nat. Rev. Microbiol: 10: 819-23.

Andrade S. J., *et al.* (2014). Molecular Phylogeny of Triatomini (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). Parasites & Vectors, 7:149.

Argolo AM, Felix M, Pacheco R, Costa J. (2008). Doença de Chagas e seus principais vetores no Brasil, 1ª. ed., Imperial Novo Milênio, Rio de Janeiro, 1, 64 pp

Barrett M.P., R.J.S. Burchmore, A. Stich, J.O. Lazzari, A.C. Frasch, J.J. Cazzulo, S. Krishna. (2003). The trypanosomiasis. *Lancet* 362: 1469–1480.

Barreto ML, Teixeira MG, Bastos FI, Ximenes RA, Barata RB, Rodrigues LC. (2011). Successes and failures in the control of infectious diseases in Brazil: social and environmental context, policies, interventions, and research needs. *Lancet*. 28; 377 (9780):1877-89. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60202-X. Epub 2011 May 9.

Billingsley, P.F., Downe, A.E. (1986). The surface morphology of the midgut cells of *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera: Reduviidae) during blood digestion. *Acta Trop.* 43, 355-366.

Billingsley, P.F. (1990). The posterior midgut ultrastructure of hematophagous insect. *Annu. Rev. Entomol.* 35, 219-248.

Blanco, Spillman C, Catalá S, Rodriguez C, Audisio, Martinez M. (2001). Programa Nacional de Chagas en Argentina. Coordinacion Nacional de Control de vectores. VIGI+A. Ministerio de Salud.

Boletín de la Organización Mundial de la Salud. (2009). Recopilación de artículos. Volumen 87., 485-564.

Borges, E.C., Machado, E.M., Garcia, E.S., Azambuja, P. (2006). *Trypanosoma cruzi*: effects of infection on cathepsin D activity in the midgut of *Rhodnius prolixus*. *Exp. Parasitol.* 112, 130-133.

Búa J, E Bontempi, A Ruíz, E Segura. (1990). Antigenos en *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Arg. Microbiol.* 22: 47-66.

Cabello DR, Galíndez I. (1998). Vital Statistics of *Panstrongylus geniculatus* (Latreille 1811) (Hemiptera: Reduviidae) under experimental conditions. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93: 257-262.

Cabello DR, Lizano E. (2001). Biology of *Triatoma flavida* Neiva, 1911 (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 879-881.

Cáceres, A.G. (2005). Manual de procedimientos de identificación de triatominos (Hemíptera: Reduviidae) de Perú. Centro Nacional de Salud, Lima, Perú.

Calderón FGE. (1996). Chinchas triatominos (Hemiptera: Reduviidae) de la Región Grau, Perú. Rev Peruana Entomol 38: 19-22

Canale DM, Cecere MC, Chuit R, Gürtler RE. (1999). Peridomestic distribution of *Triatoma garciabesi* and *Triatoma guasayana* in north-west Argentina. Med Vet Entomol 14:383–390.

Carcavallo RU, Plencovich A. (1973). La Enfermedad de Chagas en la Provincia de Buenos Aires, Argentina. Bol Of Sanit Panam 14: 281-289.,

Carcavallo, R., Susana, I., Curto de Casas, S., Sherlock, I., Galíndez-Girón, I., Jurberg, J., Galvão, C., Mena Segura, C. & Noireau, F. (1999). Geographical distribution and altitudinal dispersion. En: RU Carcavallo, I Galíndez-Girón, J Jurberg, H Lent (eds.). Atlas of Chagas Disease Vectors in the Americas. Vol. III 747-792. Rio Janeiro, Brasil: Editora Fiocruz.

Chagas C. (1909). Memorias del Instituto Oswaldo Cruz. Novam trypanosomiase humana. Estudos sobre a morfologia e ciclo evolutivo de *Schizotripanum cruzi*, novo género, nova especie, agente etiológico de nova entidade. Pag 159 - 223.

Castagnirio H., Thompson A. (1984). Epidemiología, la enfermedad de Chagas, Cardiopatía Chagásica. Capeluz, Buenos Aires Argentina.

Castillo Vivanco J B. (2012). Guía turística de la Región Sur del Ecuador, pag 85-86.

Costales J A., Sánchez-Gómez A, Silva-Aycaguer L C., Cevallos W, Tamayo S., Yumiseva C A., Jerry O. Jacobson, Luiggi Martini, Caty A. Carrera, and Grijalva M J. (2015). A National Survey to Determine Prevalence of *Trypanosoma cruzi* Infection among Pregnant Women in Ecuador. Am. J. Trop. Med. Hyg., 92(4), pp. 807–810

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). (2015). Epidemiología y factores de riesgo. <http://www.cdc.gov/parasites/chagas/es/epidemiologia.html>

Craig W.L., Faust E. (1975). Parasitología clínica, ed Salvat, Barcelona pp: 520-58.

Damborsky MP, Bar ME, Gorla D. (2005). Life cycle and reproductive patterns of *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera: Reduviidae) under constant and fluctuating conditions of temperature and humidity. *Rev Soc Brasil Med Trop* 38: 433-437.

Días Gontijo E, Santos Eloi S. (2012). Mecanismos de Transmisión del Mal de Chagas. Profesoras Asociadas de la Facultad de Medicina/UFGM, Ambulatorio de Enfermedad de Chaga. En línea: <http://www.pilarmateo.com/index.php/mecanismos-del-chagas>

Días JC. (2006). Notas sobre *Trypanosoma cruzi* e suas características bio-ecológicas, como agente de enfermedades transmitidas por alimentos. *Rev. Soc. Bras Medicina Tropical* 39: 370-5.

Diotaituti, L., Pereira, A., Loida, C., Fernandez, A., Schofield, C., Dujardin, J., Dias, J. & Chiari, E. (1995). Interrelation of sylvatic and domestic transmission of *Trypanosoma cruzi* in áreas with and without domestic vectorial transmission in Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 90: 443-448.

Eichler S, Schaub GA. (2002). Development of symbionts in triatomine bugs and the effects of infections with trypanosomatids. *Exp Parasitol.* 100:17-27.

Emmanuelle-Manchado CJ, Koerich LB, Joukoski D de B, Carvalho-Pinto CJ, Grisard EC, Steindel M. (2002). Biology of *Triatoma klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent & Galvão 2001 (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions: effects of distinct blood sources and susceptibility to *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 583-587.

Espinosa R. (1997). Estudios botánicos en el sur del Ecuador (segunda edición). Loja: Herbario Loja y Universidad de Aarhus.

Facultad Latinoamericana de Ciencias Sociales, FLACSO (2001). Caracterización de la pobreza en el Ecuador. Quito, Ecuador.

Farfán-García Ana E, Angulo-Silva V M. (2011). Conducta alimentaria de poblaciones de *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) en una zona endémica y sus implicaciones epidemiológicas. *Rev. Salud pública.* 13: 163-172.

Feliciangeli D, Carrasco H, Patterson J, Suarez B, Martínez C, Medina M. (2004). Mixed domestic infestation by *Rhodnius prolixus* Stål, 1859 and *Panstrongylus geniculatus* Latreille, 1811, vector incrimination, and seroprevalence for *Trypanosoma cruzi* among inhabitants in El Guamito, Lara State, Venezuela. *Am J Trop Med Hyg*; 71:501-5.

FLACSO Facultad Latinoamericana de Ciencias Sociales. (2001). Caracterización de la pobreza en el Ecuador. Quito, Ecuador.

Forattini OP. (1980). Biogeografia, origem e distribuição da domiciliação de triatomíneos no Brasil. *Rev Saude Pública*. 14:265-99.

Freitas JLP, Amato V, Sonntnag R, Biancalana A, Nussenszweig V, Barreto JG. (1952). Primeiras verificações de transmissão accidental da molestia de Chagas ao homem por transfusão de sangue. *Rev Paul Med*; 40:36-40.

Freitas HF, Chizzola PR, Paes AT, Lima AC, Mansur AJ. (2005). Risk stratification in a Brazilian hospital based cohort of 1220 outpatients with heart failure: role of Chagas heart disease. *Int J Cardiol*: 102:239-47

Friend WG, Smith JJ. (1985). Fisiología de los triatomíneos con especial referencia a la alimentación por sangre. En: Carcavallo RU, Rabinovich JE, Tonn RJ, editores. Factores biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas. Tomo I. Epidemiología-vectores. Washington: OPS/OMS. p. 55-81

Galvão C, Jurberg J, Cunha V, Mello RP. (1995). Biología de *Triatoma nitida* Usinger 1939 em Laboratório (Hemiptera: Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 90: 657-663.

Garcia, E.S. (1987). The digestion of Triatominae. In: Brenner, R.R., Stoka, A. (Eds.), Chagas' Disease Vector II. Anatomic and Physiological Aspects. CRC Press, Florida. 47-59.

Garcia, E.S., Azambuja, P. (1991). Development and interactions of *Trypanosoma cruzi* within the insect vector. *Parasitol*. 7: 240-244.

Garcia, E.S., Gonzalez, M.S., De Azambuja, P., Baralle, F.E., Fraidenraich, D., Torres, H.N. (1995). Induction of *Trypanosoma cruzi* metacyclogenesis in the gut of the

hematophagous insect vector, *Rhodnius prolixus*, by hemoglobin and peptides carrying α (D)-globin sequences. *Exp. Parasitol.* 81: 255-261.

Garcia, E., Gonzalez, M., Azambuja, P. (1999). Biological factors involving *Trypanosoma cruzi* life cycle in the invertebrate vector, *Rhodnius prolixus*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 94 (Suppl. 1), 213-216.

Garcia, E.S., Ratcliffe, N.A., Whitten, M.M., Gonzalez, M.S., Azambuja, P. (2007). Exploring the role of insect host factors in the dynamics of *Trypanosoma cruzi*/*Rhodnius prolixus* interactions. *J. Insect Physiol.* 53: 11-21.

GEO-Loja, (2007). Publicado por el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, Oficina Regional para América Latina y el Caribe, la Municipalidad de Loja y Naturaleza y Cultura Internacional Derechos de propiedad intelectual. Consultado en línea: <http://www.naturalezaycultura.org/docs/Geo%20Loja.pdf.22/09/2014>

Grijalva Mario J., Chiriboga Rosa F., Hans Vanhassel, Laura Arcos-Teran. (2005a). Improving the safety of the blood supply in Ecuador through external performance evaluation of serological screening of blood donors. *Journal of Clinical Virology* 34 Suppl. 2: S47-S52

Grijalva MJ, Palomeque-Rodríguez FS, Costales JA, Davila S, Arcos-Teran L. (2005b). High household infestation rates by synanthropic vectors of Chagas disease in southern Ecuador. *Journal of Medical Entomology.* 42: 68-74.

Grijalva M J., Villacís A G., Ocaña-Mayorga S., Yumiseva C A., Baus E G. (2011). Limitations of selective deltamethrin application for triatomine control in central coastal Ecuador. *Parasit. Vectors.* 4: 20.

Grijalva M J., Terán D., Dangles O. (2014). Dynamics of sylvatic Chagas disease vectors in coastal Ecuador is driven by changes in land cover. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014 Jun 26; 8 (6):e2960. doi: 10.1371/journal.pntd.0002960

Grijalva M. J., Villacis A. G., Ocaña-Mayorga S., Yumiseva C A., Moncayo A L., Baus Esteban G., (2015). Comprehensive Survey of Domiciliary Triatomine Species Capable of Transmitting Chagas Disease in Southern Ecuador. *PLoS Negl. Trop Dis.* 9:e0004142. doi: 10.1371.

Guarneri AA, Pereira MH, Diotaitu L. (2000). Influence of the blood meal source on the development of *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma sordida* and *Triatoma pseudomaculata* (Heteroptera: Reduviidae). *J Med Entomol* 37: 373-379.

Guhl F., Nicholls S., (2001). Manual de procedimientos para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas, Universidad de los Andes, 1era edición, Santafé de Bogotá-Colombia

Guhl F, Nichols RS, Montoya R, Rosas F, Velasco VM, Mora E, Herrera C, Santa Cruz MM, Pinto N, Aguilera G, Salcedo P, Zipa NY, Florez J, Olarte A, Castillo G .(2008). Rápida negativización serológica después del tratamiento etiológico para enfermedad de Chagas en un grupo de escolares colombianos. Curso de Diagnóstico, Manejo y Tratamiento de la enfermedad de Chagas OPS/MSF/SSA. 205-212. Consultado en línea://www.mex.ops-oms.org/documentos/chagas/Capitulo%202.pdf.

Hoare, C. A. (1972). The Trypanosomes of Mammals. Blackwell Scientific Publishing, Oxford, England. pp 645-714

Hernández Jorge L, Rebollar-Téllez Eduardo A, Infante Francisco, Morón Alejandro, Castillo Alfredo. (2010). Indicadores de Infestación, Colonización e Infección de *Triatoma dimidiata* (Latreille) (Hemiptera: Reduviidae) en Campeche, México. *Neotropical Entomology* 39(6):1024-1031

Hoft DF. (1996). Differential mucosal infectivity of different life stages of *Trypanosoma cruzi*. *Am J Trop Med Hyg.* 55: 360-4.

INAMHI. (2013). Revista Institucional. Meteorología en el Ecuador. Consultado en línea: 28/07/2014.

INEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos). (2010). Resultados del censo 2010 de población y vivienda en el Ecuador. Consultado en línea www.ecuadorencifras.gob.ec/wp-content/descargas/Manu-lateral/Resultados-provinciales/loja.pdf

INEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos). (2015). Población y Demografía. Consultado en línea www.ecuadorencifras.gob.ec/censo-de-poblacion-y-vivienda/. 13/09/2015

João C P D. (2009). La enfermedad de Chagas en una historia de vida: conocer la enfermedad, cambiar el mundo. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 25 Sup 1:S179-S186.

Jones EM, Colley DG, Tostes S, Lopes ER, Vnencak-Jones CL, McCurley TL. (1993). Amplification of a *Trypanosoma cruzi* DNA sequence from inflammatory lesions in human chagasic cardiomyopathy. *Am J Trop Med Hyg* 48, 348-57?

Jörg Miguel, Storino Rubén. (2002). La enfermedad de Chagas en el siglo XXI: Consenso para una asignatura pendiente. *Revista Argentina De Cardiología*, Vol. 70, Suplemento 1pp: 9-13.

Kirchhoff LV. (2011). Chagas' disease. In: Goldman L, Schafer AI, eds. *Cecil Medicine*. 24th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; chap 355.

Kirszenbaum F y Stztein M. (1994). Chagas' disease (American Trypanosomiasis), *Parasitic Infection of the Immune System*, Cap. 2, 53-85

Lausi L. (1979). II Jornadas de entomoepidemiología Argentina, 3, Buenos Aires 1965 y 39' Lugones y Ledesma *Anales Nestle, parasitosis*, 134: 124, Buenos Aires.

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

Luitgards-Moura JF, Vargas AB, Almeida CE, Magno-Esperança G, Agapito-Souza R, Folly-Ramos E, Costa J, Tsouris P, Rosa-Freitas MG (2005). A *Triatoma maculata* (Hemiptera: Reduviidae, Triatominae) population from Roraima, Amazon Region, Brazil, has some bionomic characteristics of a potential Chagas disease vector. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 47: 131-137.

Lumbreras H, Arrarte JA, Tejada A. (1955). Nota acerca de la presencia del *Panstrongylus herreri* y *Triatoma carrioni* en el distrito de Querocotillo, Provincia de Cutervo del Departamento de Cajamarca. *Rev Méd Peruana* 26: 444-446.

Márquez E, Crespo M, Mir M, Pérez-Sáez M J., Salvador Quintana, Francesc Barbosa, Pascual J. (2013). Enfermedad de Chagas y donación renal. Chagas' disease and kidney donation. Servicio de Nefrología, Hospital del Mar, Passeig Marítim, 25-29, 08003, Barcelona

Martínez-Ibarra J A, Katthain-Duchateau G. (1999). Biology of *Triatoma pallidipennis* Stal 1945 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) under laboratory conditions. Mem. Inst. Oswaldo Cruz vol.94 n.6 Rio de Janeiro. 837-839

Martínez-Ibarra JA, Salazar-Schettino PM, Solorio-Cibrián M, Cabrera-Bravo M, Novelo-López M, Vences MO, Montes-Ochoa JY, Noguera-Torres B. (2008). Influence of temperature and humidity on the biology of *Triatoma mexicana* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) under laboratory conditions. Mem Inst Oswaldo Cruz 103: 719-723.

Mazza S, Montana A, Benitez C, Juzin E. (1936). Transmisión de "*Schizotrypanum cruzi*" al niño por leche de la madre con enfermedad de Chagas. Misión de Estudios de Patología Regional Argentina (MEPRA) 28: 41-46.

Miles MA. (1998). New World Trypanosomiasis, pp. 238-302 en (Collier L, Balows A, Sussman M Ed.) Microbiology and Microbial Infections, Vol. 5: Parasitology, 9th Edition, Topley & Wilson's, Reino Unido.

Molina JA., Gualdrón LE., Brochero HL., Olano VA, Barrios D., Guhl F. (2000). Distribución actual e importancia epidemiológica de las especies de triatomos (Reduviidae: Triatominae) en Colombia. Biomedica 20: 344-360.

Moncayo A. (1999). Progress towards interruption of transmission of Chagas Disease. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 94, (Suppl. I): 401-404.

Mosquera, K.D., Villacís, A.G., Grijalva, M.J. (2013) (in press). Life cycle, feeding and defecation patterns of *Panstrongylus chinai* (Del Ponte, 1929) (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) under laboratory conditions.

Nickerson P, Orr P, Schroeder JL, Sekla L, Johnston JB. (1989). Transfusion-associated *Trypanosoma cruzi* infection in a non-endemic area. Ann Intern Med; 111:851-3

Nieto-Sanchez C, Baus E, Guerrero D, Grijalva M J. (2015). Positive deviance study to inform a Chagas disease control program in southern Ecuador. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 110: 299–309.

Noireau, F., (1999). La Enfermedad de Chagas y sus particularidades epidemiológicas en Bolivia. En: Chagas. La enfermedad de Bolivia. Conocimientos científicos al inicio del programa de control (1998-2002). (J. Cassab, F. Noireau, G. Guillén, eds). Ediciones Gráficas, La Paz, Bolivia.

Noyes H. (1998). Can *Trypanosoma* trees be trusted? *Parasitol*, 14:49–50.

Oscherov EB, Damborsky MP, Bar ME, Gorla DE. (2004). Competition between vectors of Chagas disease, *Triatoma infestans* and *T. sordida*: effects on fecundity and mortality. *Med Vet Entomol*.18: 323–328.

Pinto-Dias, JC., e Rodriguez-Coura, J. (1997). Clinica e terapéutica da doença de Chagas uma abordagem practica para o clínico geral. Edit. FIOCRUZ.

Rassi A, Luquetti AO, Rassi A Jr, *et al.* (2007). Specific treatment for *Trypanosoma cruzi*: lack of efficacy of allopurinol in the human chronic phase of Chagas disease. *Am J Trop Med Hyg*. 76:58–61.

Ricklefs Robert E. (1983). Avian postnatal development. *Avian Biology*. 1-83.

Reyes M, Angulo Víctor Ml. (2009). Ciclo de vida de *Triatoma dimidiata* Latreille, 1811 (Hemiptera, Reduviidae) en condiciones de laboratorio: producción de ninfas para ensayos biológicos. *Biomédica Print version ISSN 0120-4157*.vol. 29 no.1 Bogotá

Rocha D da S, Santos CM dos, Cunha V, Jurberg J, Galvão C. (2004). Ciclo biológico en laboratorio de *Rhodnius brethesi* vector silvestre da doença de Chagas na Amazônia. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 591-595.

Rojas Palacios J H. (2012). Boletín epidemiológico de eventos transmitidos por vectores y zoonosis No. 10. Secretaría de Salud Municipal. Cali- Colombia

Ruppert, E. E. y Barnes R D. (1996). Zoología de los Invertebrados. McGraw - Hill Interamericana. México. 111 Ruppert, E. E. y Barnes R D. (1996). Zoología de los Invertebrados. McGraw - Hill Interamericana. México. 1114 pp4 pp

Sánchez, J. (2011). Introducción al diseño experimental. Quito – Ecuador.

Sánchez, J. (2012). Introducción a la estadística no paramétrica y el análisis multivariado. Quito – Ecuador.

Schofield J C, (1994). Principles of aseptic technique, in essentials for animal research: A primer for research personnel, Bennett, B.T., Brown, M.J., and Schofield J C., Eds., National Agricultural Library, Washington D.C.

Schofield J C, (2001). “Field testing and evaluation of insecticides for indoor residual spraying against domestic vectors of Chagas disease”. WHO/WHOPES. 1pp.

Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo (SENPLADES). (2009). Plan Nacional para el Buen Vivir 2009-2013. Consultado en línea <http://www.planificacion.gob.ec/plan-nacional-para-el-buen-vivir-2009-2013/>

Steindel M, Kramer Pacheco L, Scholl D, Soares M, de Moraes MH, Eger I, Kosmann C, Sincero TC, Stoco PH, Murta SM, de Carvalho-Pinto CJ, Grisard EC.. (2008). Characterization of *Trypanosoma cruzi* isolated from humans, vectors, and animal reservoirs following an outbreak of acute human Chagas disease in Santa Catarina State, Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 60: 25-32.

Tanowitz, H. B., S. A. Morris, S. A. Factor, L. M. Weiss., M. Wittner. (1992). parasitic diseases of the heart. I: acute and chronic Chagas' disease. *Cardiovasc. Pathol.* 1:7-15.

Tay J, Lara R. Velazco O, Gutiérrez M. (1991). *Parasitología Médica* 5a. ed. México; Méndez Cervantes;. p. 112-22.

Tay J, Sanchez-Vega JT, Robert-Guerrero L, Alonso-Guerrero T, Romero Cabello R. (1996). Nuevas localidades con triatominos infectados por *Trypanosoma cruzi* en la República Mexicana. *Biol Chil Parasitol.* 5: 49-53

Telleria J., Tibayrenc M. (2010). American Trypanosomiasis Chagas Disease One Hundred Years of Research. Elsevier 32 Jamestown Road London NW1 7BY. 14: 339-352

Townsend Peterson A. Sánchez-Cordero, V., Beard, C B., Ramsey, J M. (2002). Ecological niches modeling and potencial reservoirs for Chagas disease, Mexico. *Emerging Infectious Diseases*. 662-667.

Valente SA, Valente VC, Pinto A. (2006). Epidemiologia e transmissão oral da doença de Chagas na Amazonia Brasileira. Instituto Evandro Chagas. Rodovia. In: Informe Final Consulta Técnica y Epidemiología, Prevención y Manejo de la Transmisión de la Enfermedad de Chagas como Enfermedad Transmitida por Alimentos (ETA); 4-5; Rio de Janeiro. Pp. 21-6.

Villacís, A.G, Arcos-Terán L, Grijalva M J. (2008). Life cycle, feeding and defecation patterns of *Rhodnius ecuadoriensis* (Lent & León 1958) (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) under laboratory conditons. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 103: 690-695.

Villamar, D.; López, S., Sánchez, B. (2004). El proceso migratorio en la provincia de Loja. Quito: Plan Migracion, Comunicación y Desarrollo.

Wendel, S., Brener, Z. (1992). Historical Aspects. En: Chagas' Disease. American Trypanosomiasis: its impact on transfusion and clinical medicine (S. Wendel, Z. Brener, M. Camargo, A. Rassi, eds.), Sociedad Brasileira de Hematología e Hemoterapia, Sao Paulo, Brasil.

Wendel S. (1998). Transfusion - transmitted Chagas` disease. *Current Opinion in Hematology*. 5:406-411

World Health Organization (WHO). (1991). Control of Chagas disease. WHO Technical Report Series 811. WHO, Ginebra, Suiza.

World Health Organization (WHO). (2002). Control of Chagas disease. Second report of the WHO Expert, committee. WHO Technical Report Series, 905, VI+109 pp.

WHO (World Health Organization). (2007). Los asociados mundiales redoblan la lucha contral el mal de Chagas. Nuevas estrategias para eliminar la Tripanosomiasis Americana. Ginebra-Suiza.

WHO (World Health Organization), (2010). First WHO report on neglected tropical diseases working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Genova-Italia)

WHO (World Health Organization), (2012). The Global Burden of Disease Report. http://www.who.int/entity/healthinfo/global_burden_disease/GHE_DALY_WHOREg6_2000_2012.xls

WHO (World Health Organization), (2015). La enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis americana. Nota descriptiva N°340. Consultado en línea: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/14/08/2015>

Wolff M, Cuartas E, Velázquez C, Jaramillo N. (2004). Development cycle of *Panstrongylus rufotuberculatus* (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. *J Med Entomol* 41: 1010-1014.

Zeledón R, Guardia VM, Zúñiga A, Swartzwelder JC. (1970). Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) I Life cycle, amount of blood ingested, resistance. *J Med Entomol.*7:313-9

Zeledón R, Alvarado R, Jirón LF. (1977). Observations on the feeding and defecation patterns of three triatomine species (Hemiptera: Reduviidae) *Acta Trop.* 34: 65-77.

Zeledón R. (1981). Vectores de la enfermedad de Chagas y sus características eco fisiológicas. *Interciencia* 8: 384-394.

Zeledón R. (1983). Vectores de la enfermedad de Chagas y sus características eco fisiológicas. *Interciencia* 8: 384-394.

Zeledón R, Montenegro VM, Zeledón O. (2001). Evidence of colonization of man-made ecotopes by *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) in Costa Rica. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 96:659-60.

Zeledón Rodrigo, Freitas MG. (2005). A *Triatoma maculata* (Hemiptera: Reduviidae, Triatominae) population from Roraima, Amazon Region, Brazil, has some bionomic characteristics of a potential Chagas disease vector. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 47: 131-137.

Zeledón Rodrigo, Cordero Marlen, Marroquín Ricardo, Elias Seixas Lorosa. (2010). Life cycle of *Triatoma ryckmani* (Hemiptera: Reduviidae) in the laboratory, feeding patterns in nature and experimental infection with *Trypanosoma cruzi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.* 105: 99-102.

10. FIGURAS

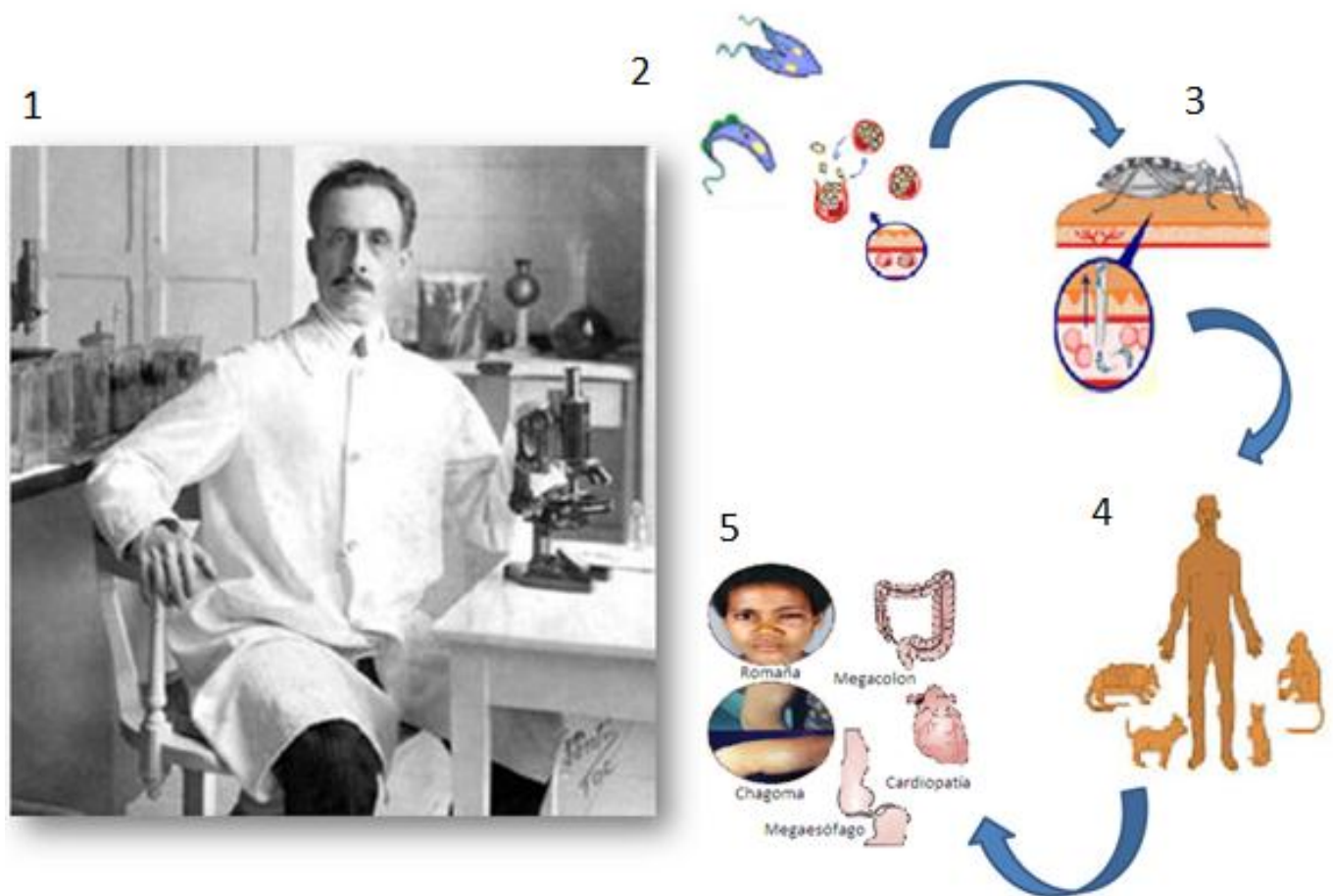


Figura 1. Dr. Carlos Chagas

1.- Médico Brasileño Carlos Chagas descubridor de la enfermedad de Chagas en 1909; tras un año de examinar muestras de sangre de una pequeña de 2 años, el único en más de cien años en determinar todos los componentes (parásito, vector, hospederos y sintomatología) de la enfermedad.

2.- Patógeno de la enfermedad (*Trypanosoma cruzi*)

3.- Vector de la enfermedad (triatominos)

4.- Hospederos de la enfermedad incluyendo al hombre y pequeños mamíferos

5.- Cuadro clínico de la enfermedad

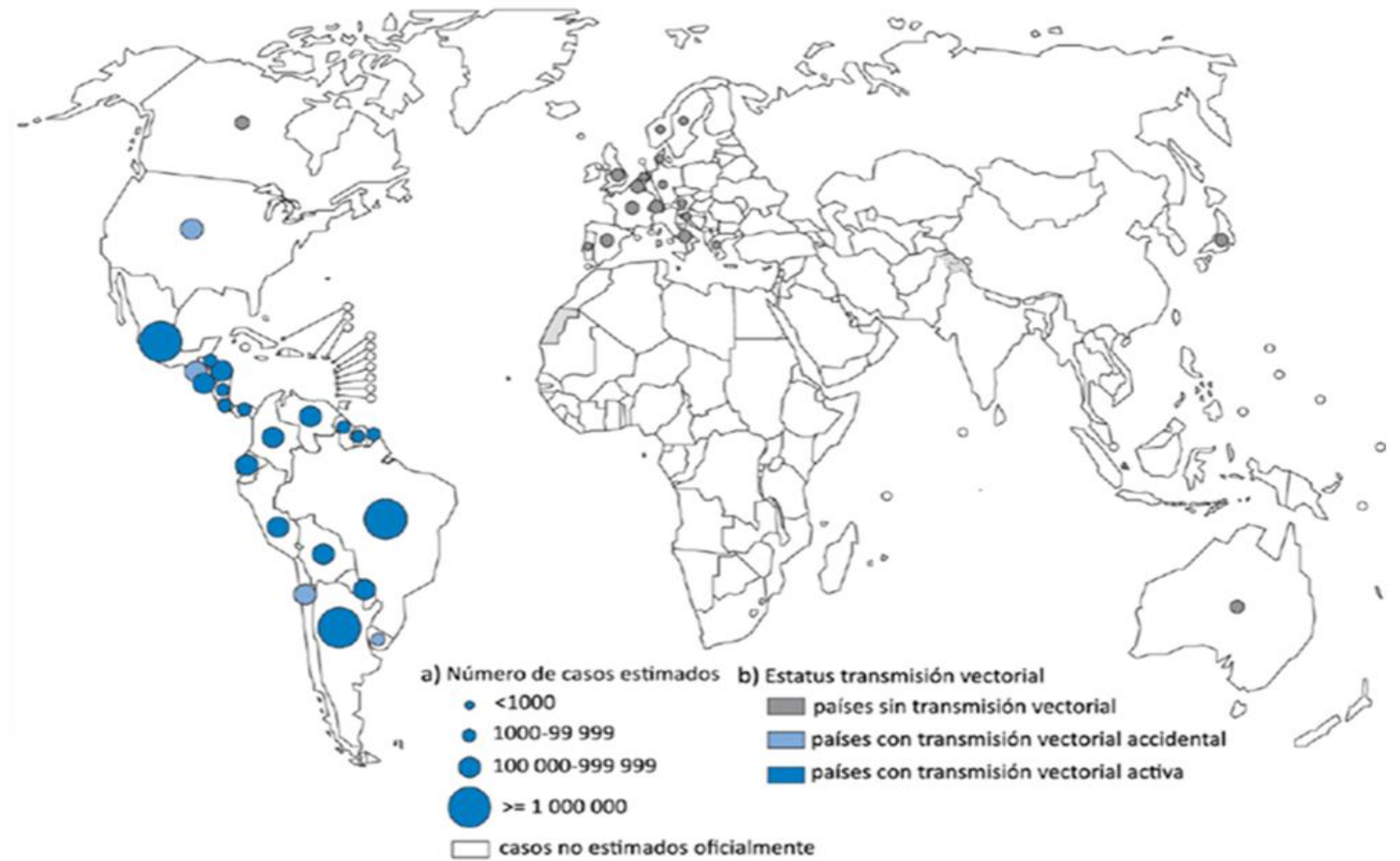


Figura 2. Mapa de la distribución mundial de la ECh.

La enfermedad de Chagas es endémica de países Latinoamericanos; desde el sur de Estados Unidos hasta el sur de Argentina, abarcando 21 países.

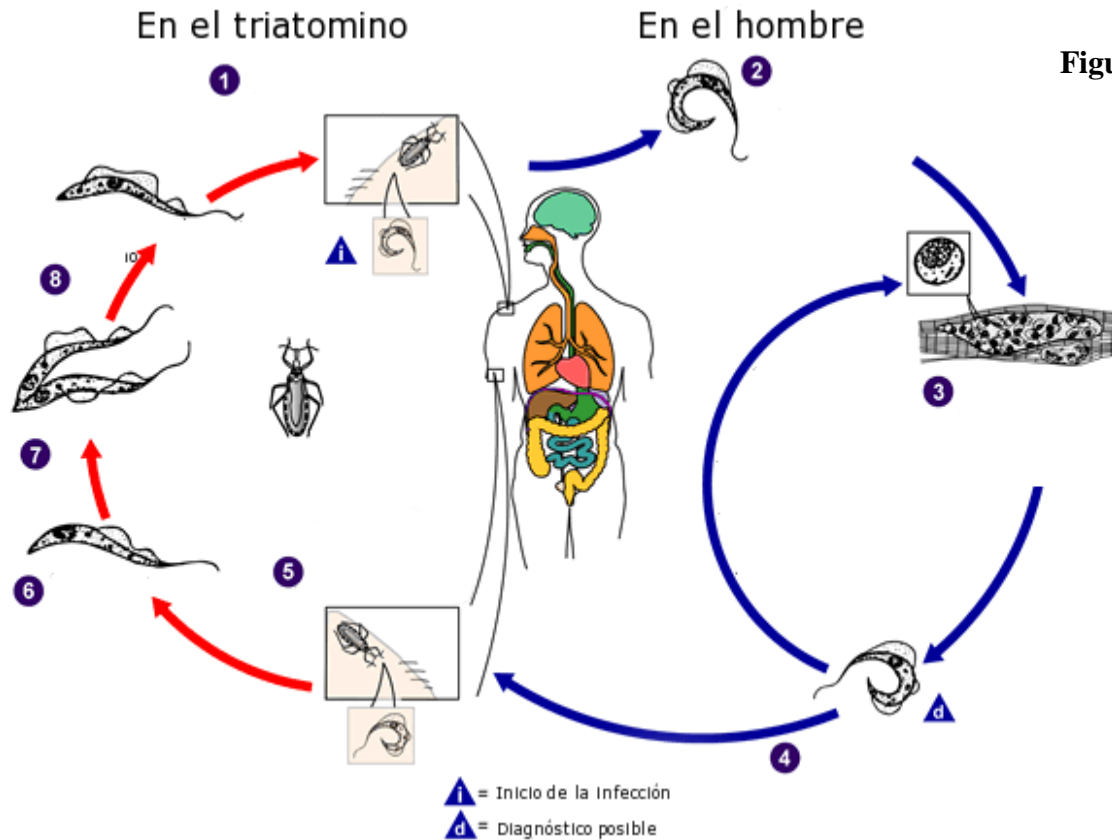


Figura 3. Parásito de la Enfermedad de Chagas y su ciclo de vida

1.- Paso de tripomastigote meta cíclicos en las heces de los triatomino.

2.- Tripomastigote ingresa a las células, para ser transformados en Amastigotes.

3.- Amastigotes, se multiplican por fisión binaria, dentro de las células infectadas.

4.- Los Amastigotes, se transforman en tripomastigotes al salir de la célula infectada, e invaden el torrente sanguíneo. (Son la forma infecciosa)

5.- Si el triatomino se alimenta, nuevamente, este toma

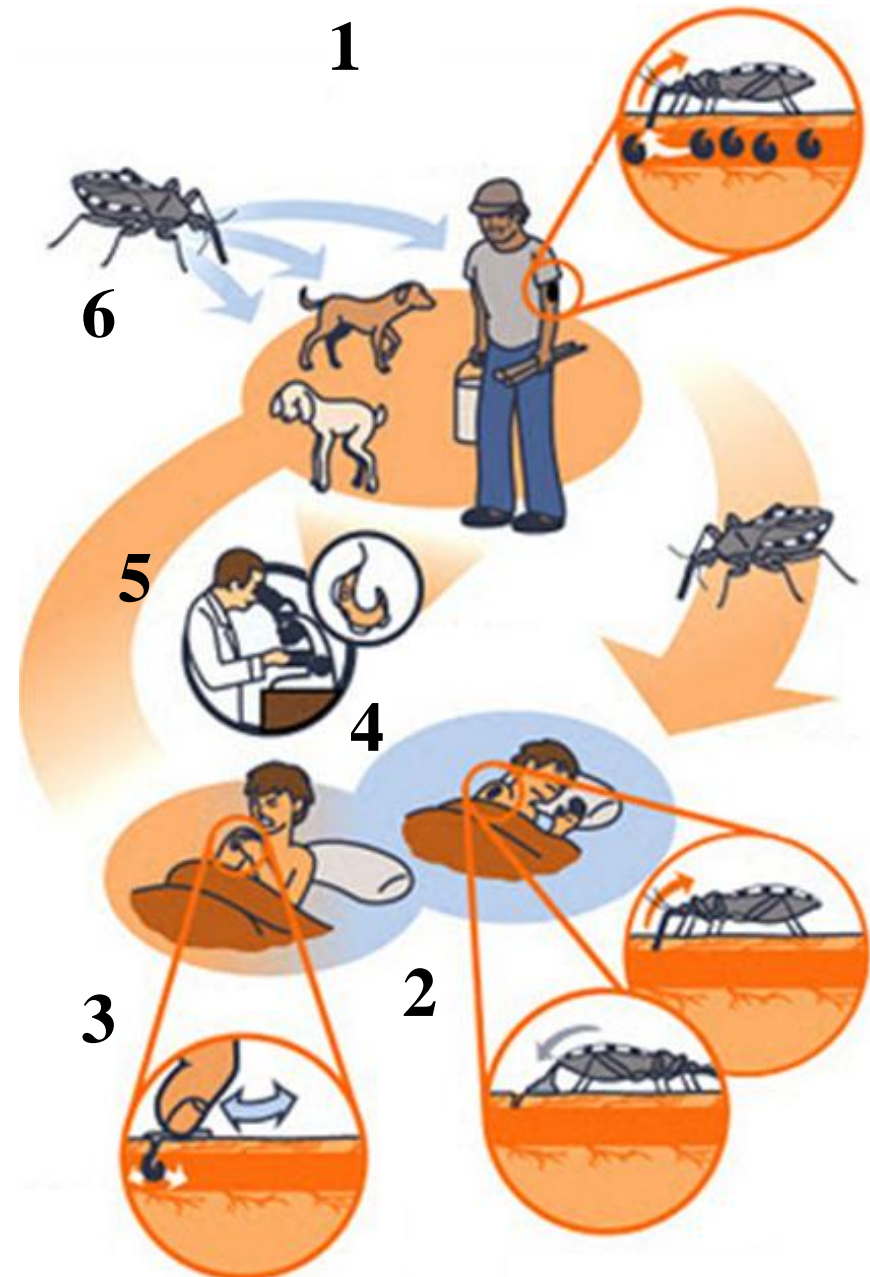
6.- Los tripomastigotes se convierten en epimastigotes en el intestino del triatomino, esta forma es decir epimastigote, es únicamente en el insecto.

7.- Los epimastigotes se dividen por fisión binaria en el intestino del triatomino.

8.- Se transforman en tripomastigotes, en el recto del triatomino, para nuevamente infectar células de hospedadores.

Figura 4. Ciclo de vida de la enfermedad de Chagas

1. El triatomino se encuentra habitualmente en el entorno del hombre y mamíferos más pequeños
2. Al alimentarse de la sangre de los hospederos, el insecto defeca, y coloca las heces sobre la piel.
3. Cuando se manipula y/o rasca la herida, e l parásito ingresa en el torrente sanguíneo en forma de tripomastigote para infectar a la célula.
4. La ECh se puede manifestar, en un principio como un resfriado común pero puede pasar varios años sin presentar malestar.
5. El tripomastigote es la forma infectiva, que puede ser observada por microscopia, para reconocimiento de la enfermedad.
6. Cuando el tripomastigote, se encuentra en el torrente sanguíneo puede ser nuevamente ingerido por el triatomino y comenzar nuevamente el ciclo de la enfermedad.



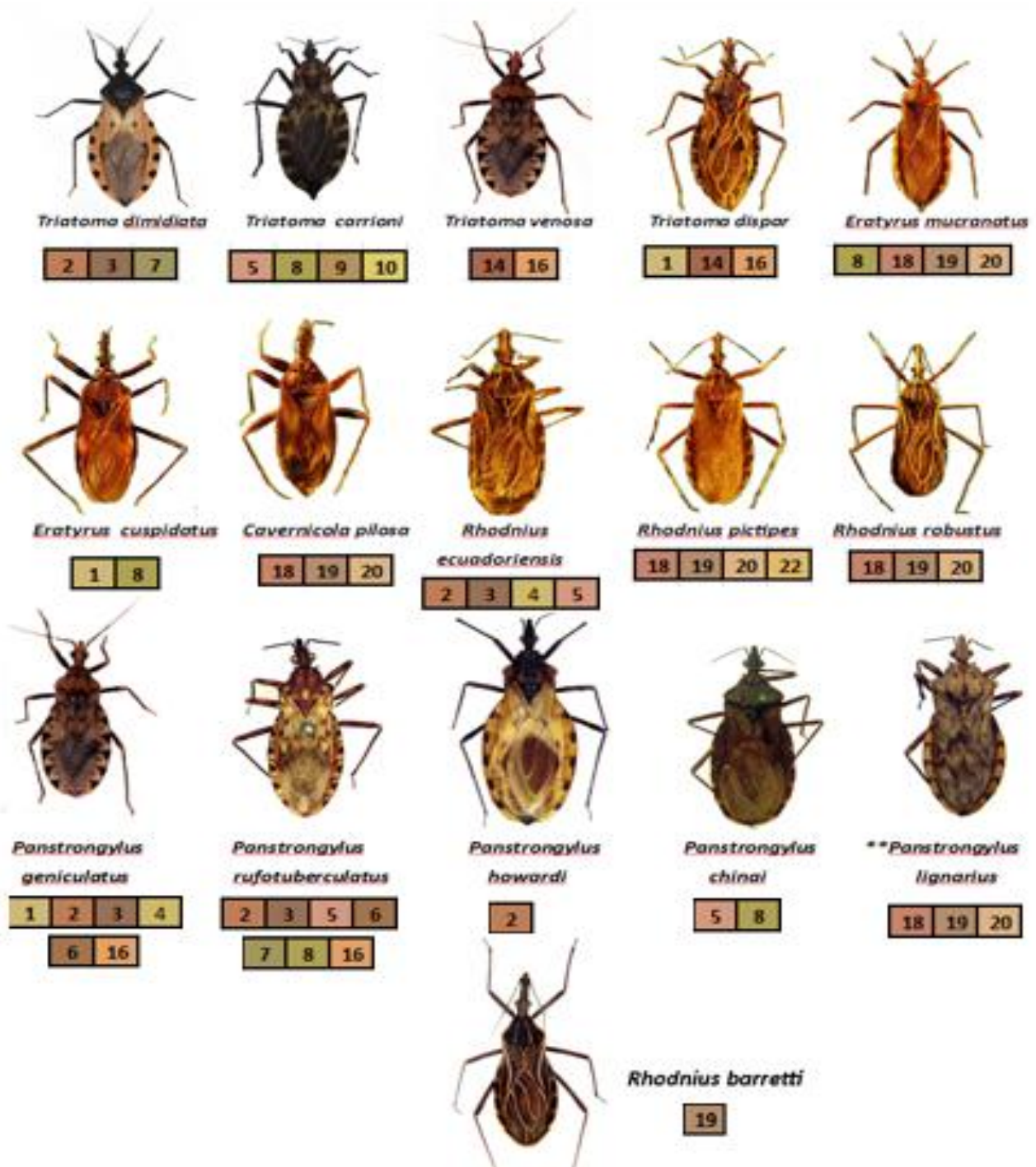


Figura 5. Triatominos de Ecuador

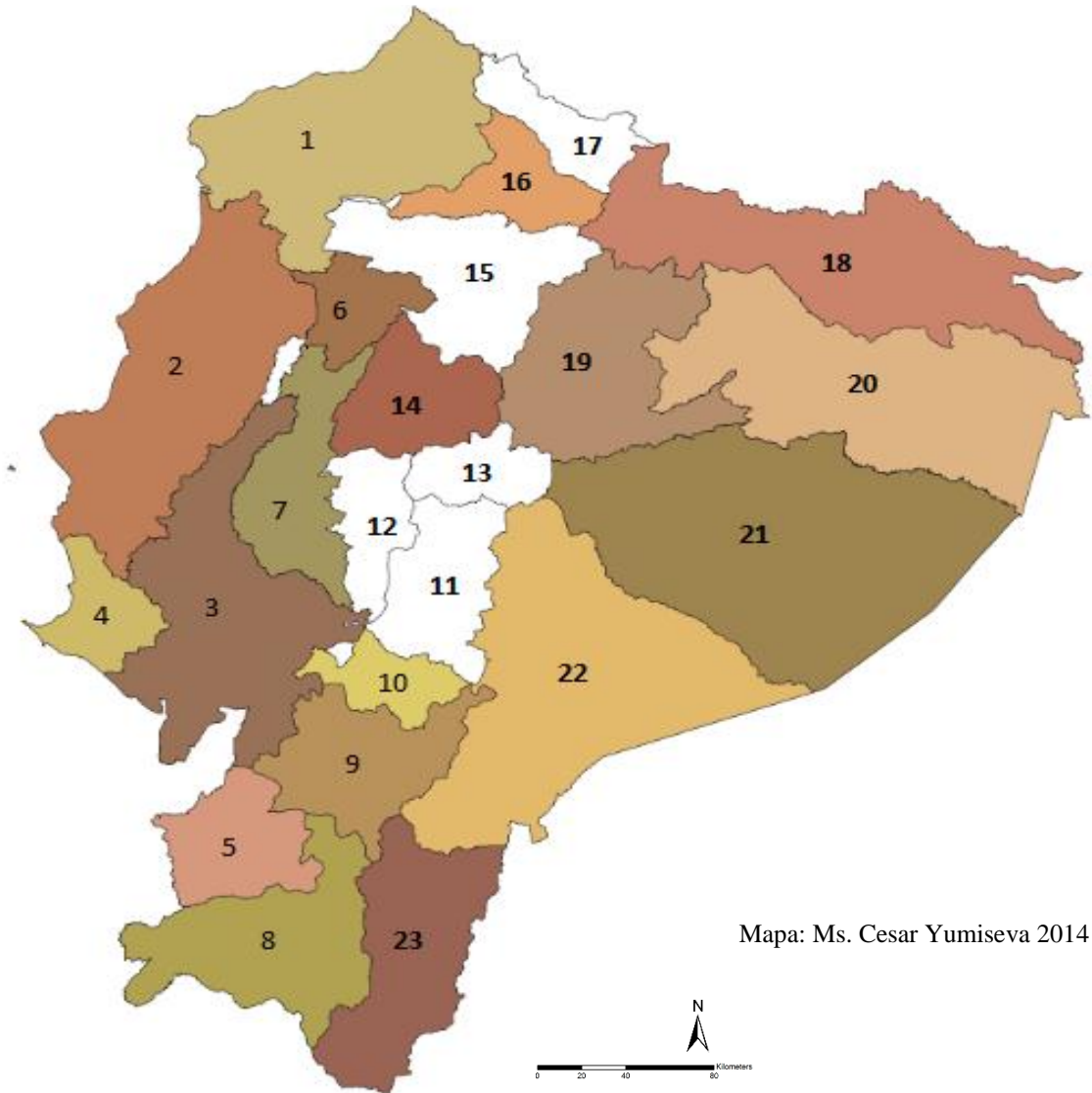
Dieciséis especies de triatominos con enfoque entomológico reportados para Ecuador.

En la parte inferior se muestra el número de la provincia donde han sido encontrados (ver en la Figura 6).

Fotografías: Abad-Franch, IREKANI, Anabel Padilla

Figura 6. Provincias donde se han reportado la presencia de los 16 triatominos con enfoque de importancia entomológica

- 1 Esmeraldas
- 2 Manabí
- 3 Guayas
- 4 Santa. Elena
- 5 El Oro
- 6 Santo. Domingo de los Tsáchilas
- 7 Los Ríos
- 8 Loja
- 9 Azuay
- 10 Cañar
- 11 Chimborazo
- 12 Bolívar
- 13 Tungurahua
- 14 Cotopaxi
- 15 Pichincha
- 16 Imbabura
- 17 Carchi
- 18 Sucumbíos
- 19 Napo
- 20 Orellana
- 21 Pastaza
- 22 Morona Santiago
- 23 Zamora Chinchipe
- 24 Galápagos



Mapa: Ms. Cesar Yumiseva 2014



Figura 7.. *Triatoma carrioni*

Triatoma carrioni macho (izquierda) y hembra (derecha) donde se puede observar dimorfismo sexual, la hembra es de mayor tamaño que el macho

Fotografía: Anabel Padilla., 2014

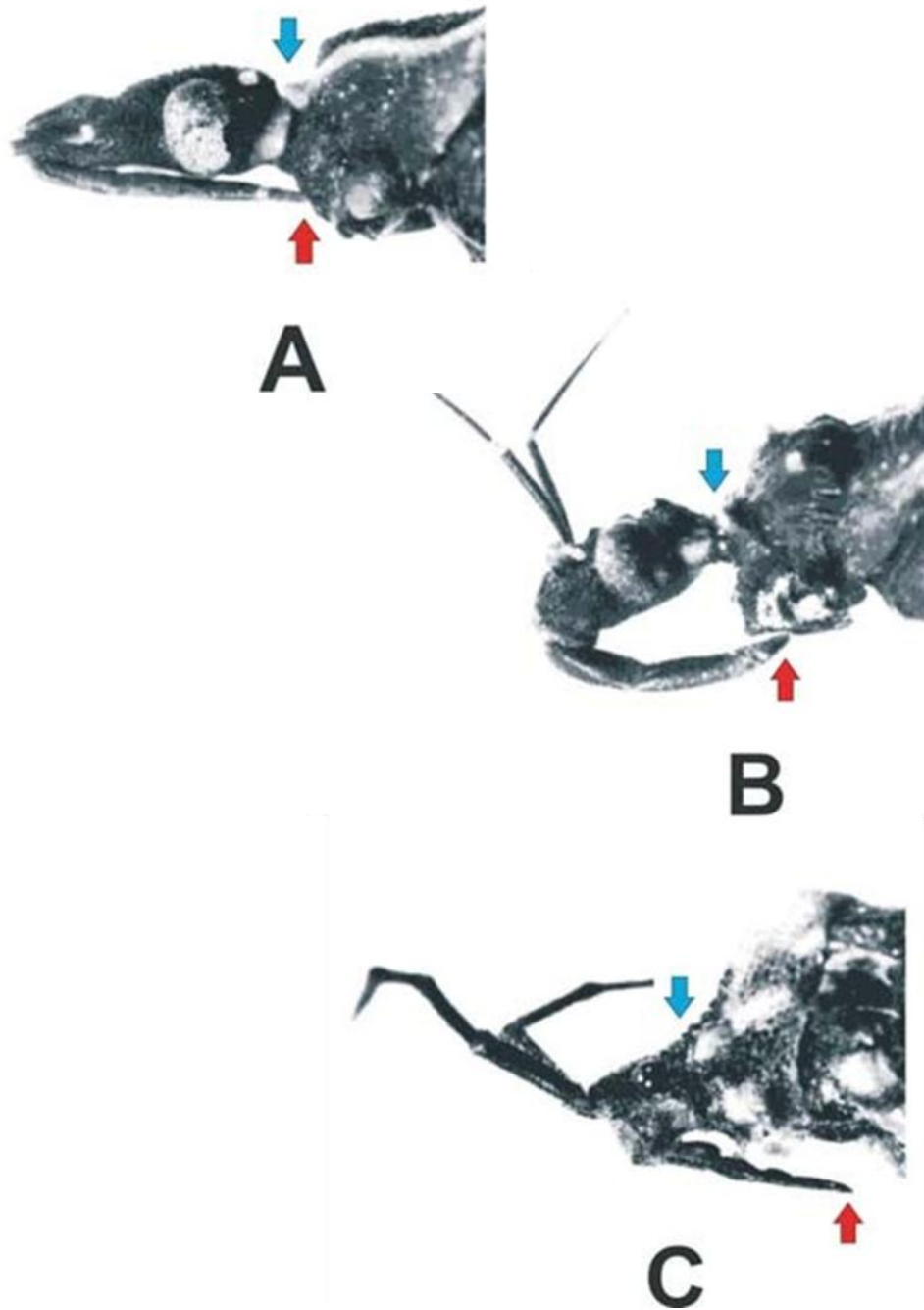


Figura 8. Comparación de probóscides

- A) Hematófago: rostro recto, con tres segmentos en la probóscide, y una membrana que permite que se despliegue hacia arriba en el momento de la alimentación.
- B) Predador: rostro curvado , con tres segmentos en la probóscide
- C) Fitófago: rostro recto, estrecho con cuatro segmentos en la probóscide.



Figura 9. Estadios ninfales y adultos de *T. carrioni*

De izquierda a derecha, huevos, ninfa I (NI), ninfa II (NII), ninfa III (NIII), ninfa IV (NIV), ninfa V (NV), macho (♂) y hembra (♀).

Fotografía: Anabel Padilla, 2014

A)



B)

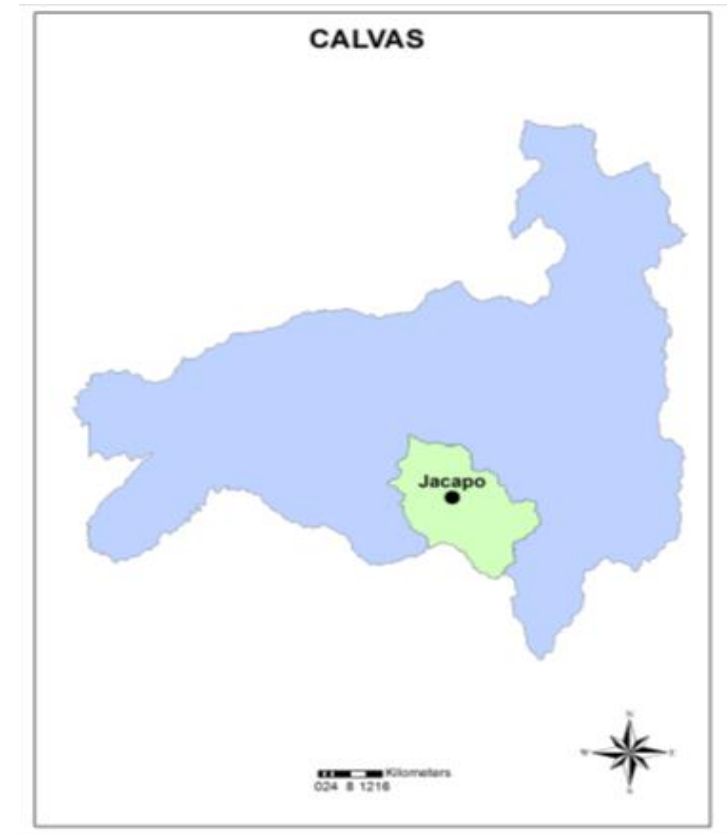


Figura 10. Mapas:

A Mapa del Ecuador, en celeste se indica la Provincia de Loja. **B** Mapa de la provincia de Loja, en verde se señala el cantón Calvas y la comunidad de Jacapo, donde se recolectaron los parentales del experimento.

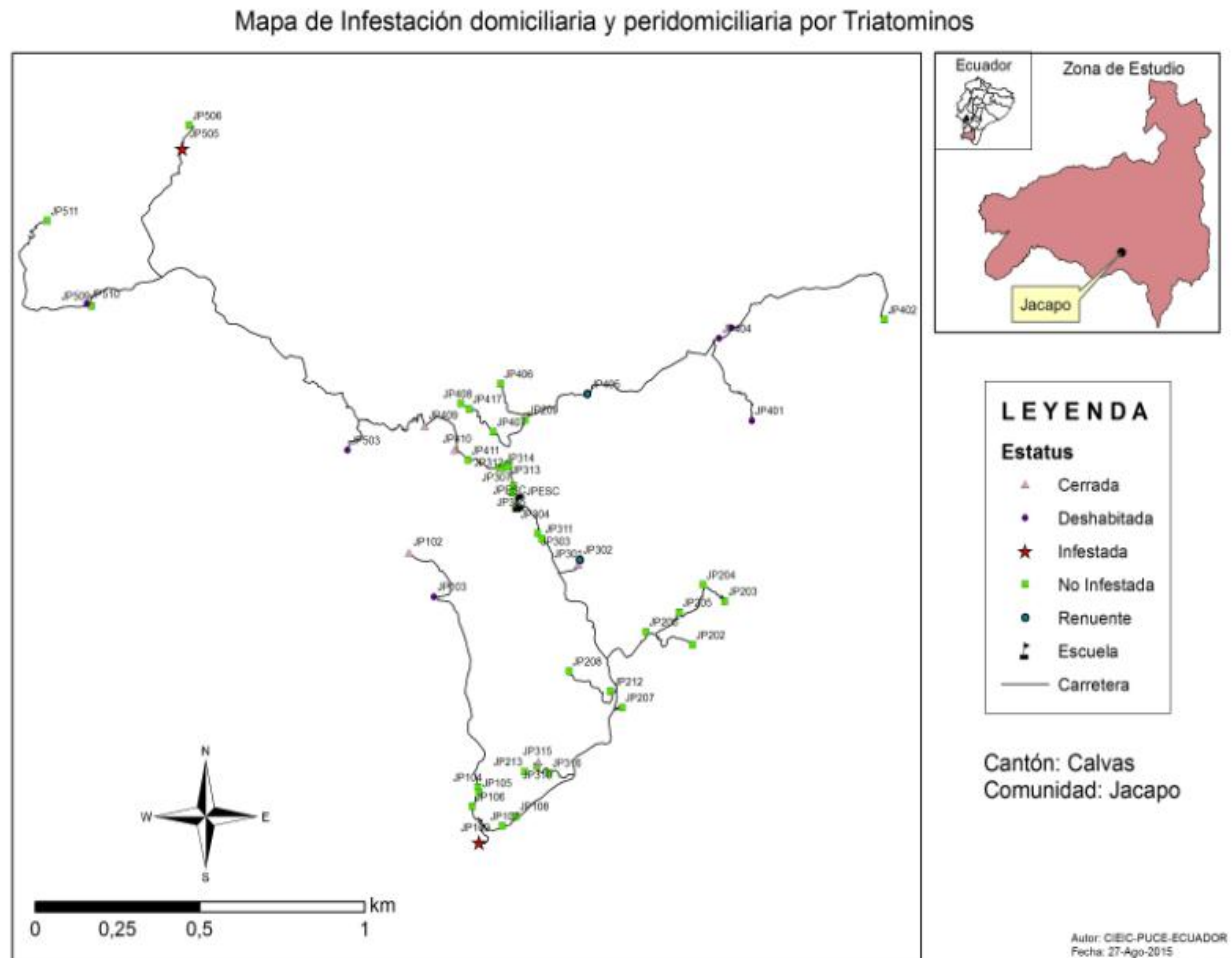


Figura 11. Mapa de las viviendas visitadas en la comunidad Jacapo (Calvas-Loja)

En el mapa se observa con puntos verdes, las casas visitadas en la comunidad Jacapo (Calvas-Loja), estos puntos (coordenadas) se obtuvieron mediante GPS (Garmin eTrex Summit®).

1)



2)



3)



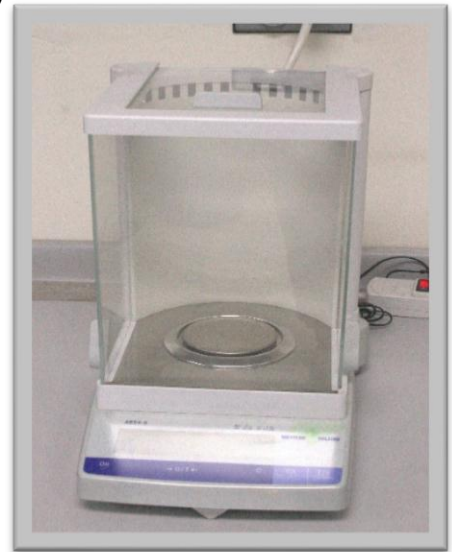
Figura 12. Procedimiento de búsquedas de triatomines en el ambiente sinantrópico (domicilio y peridomicilio)

1) Búsqueda de triatomines dentro (domicilio), 2) fuera de las viviendas (peridomicilio), y 3) Preparación de bomba Hudson Xpert con insecticida para el procedimiento de rociado de las viviendas infestadas.

1)



2)



3)

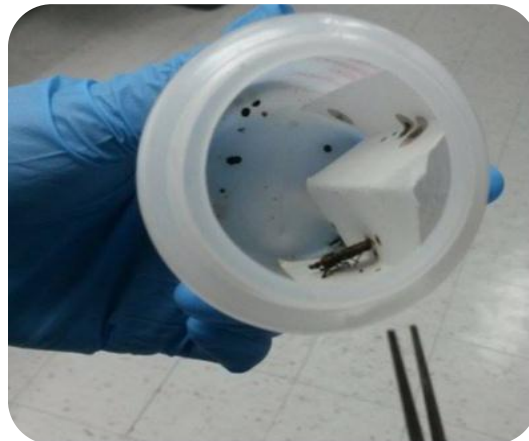


Figura 13. Procedimiento en laboratorio

1) Incubadora del CIEIC, con temperaturas de $24 \pm 6^{\circ}\text{C}$, humedad relativa del 70% y fotoperiodos de 12 horas, que simulan las condiciones del lugar de captura.

2) Balanza analítica (Mettler Toledo, AB54-S, Switzerland), para pesar a los triatominos antes y después de la alimentación.

3) Frascos de plástico, donde se mantenían los triatominos individualmente para el proyecto, asignando un código único.

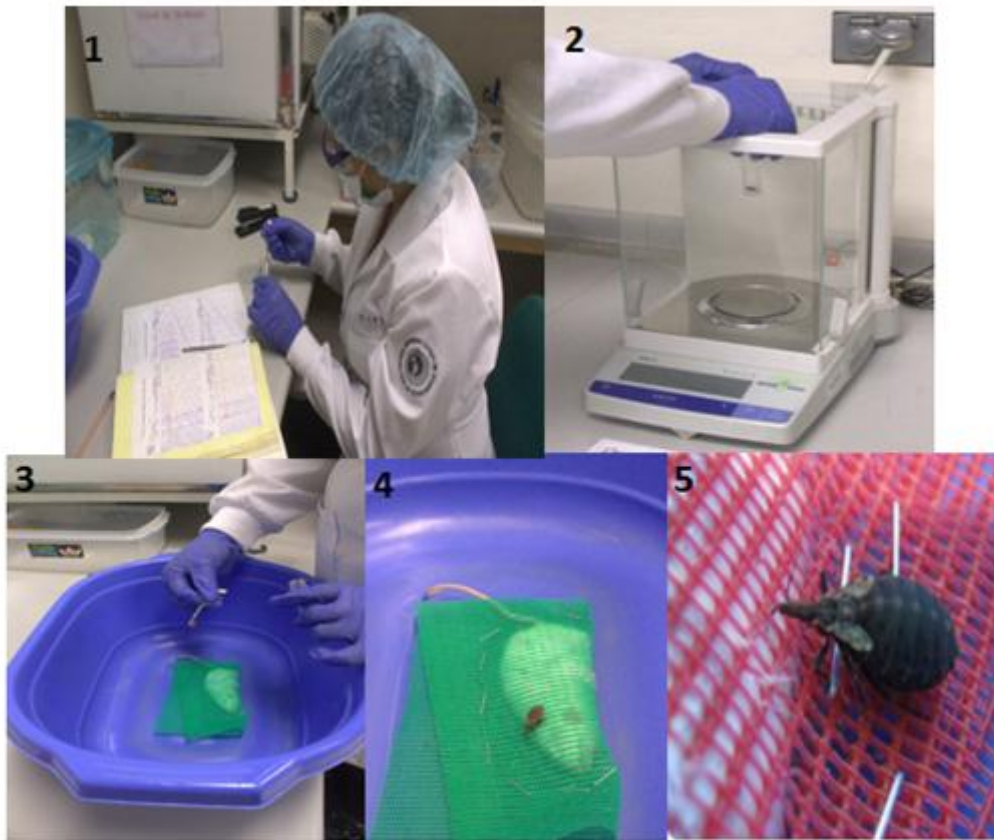


Figura 14. Metodología en el laboratorio

- 1 Registro del código del triatomino, estadio ninfal y fecha de la alimentación.
- 2 Peso del triatomino en la balanza analítica (Mettler Toledo, AB54-S, Switzerland) antes del ofrecimiento de alimento.
- 3 Ofrecimiento de alimento con sangre de *Mus musculus*.
- 4 El triatomino tiene un tiempo de 20 minutos para encontrar la vena y alimentarse mediante el ingreso de la probóscide
- 5 Posterior a la alimentación, los triatominos son pesados mediante la balanza analítica. Adicionalmente, se registra el tiempo de defecación durante la alimentación, y 20 minutos posteriores a la misma.

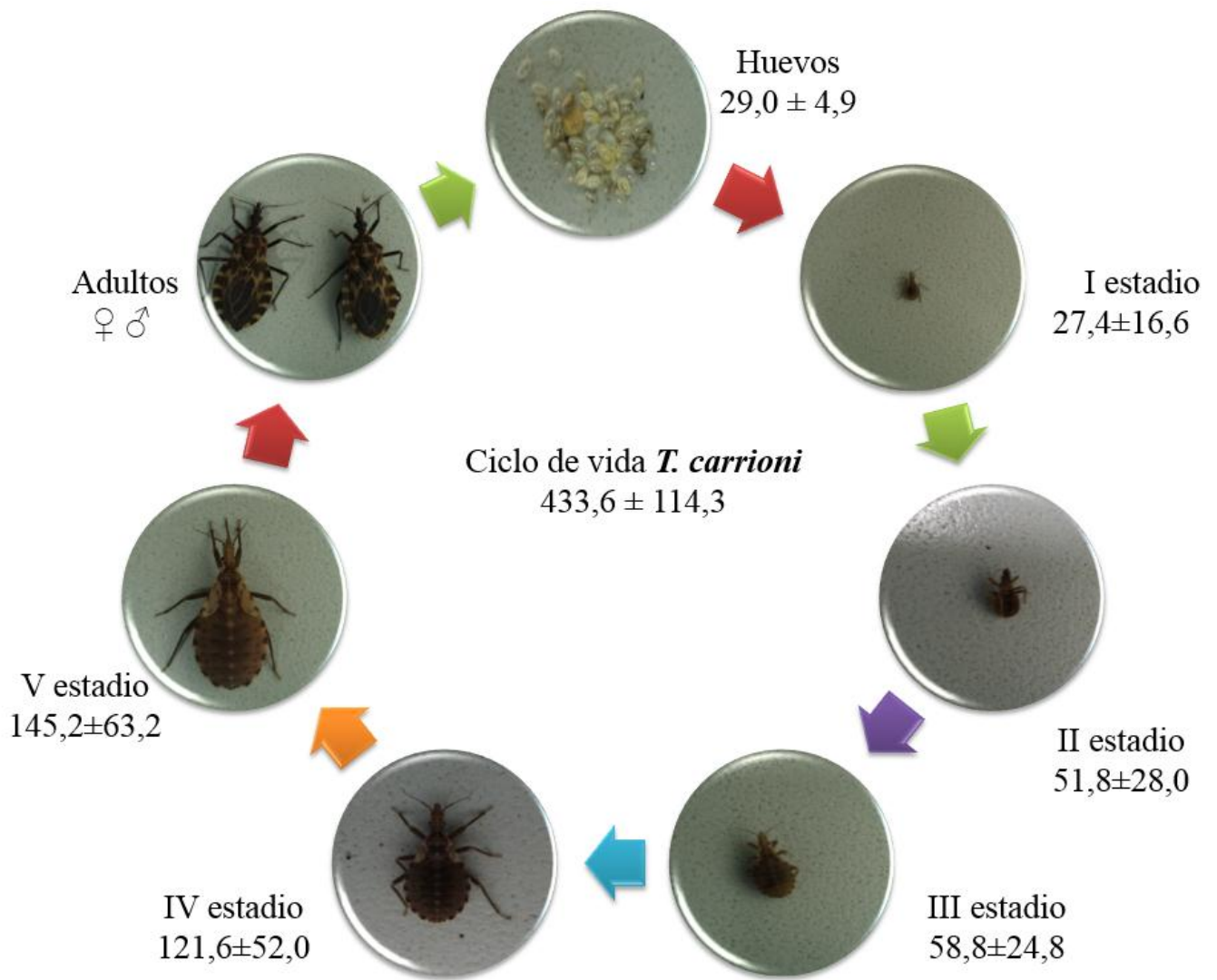


Figura 15. Ciclo de Vida

Triatoma carrioni bajo condiciones controladas de laboratorio, El tiempo promedio de la especie para completar su ciclo es de $433,87 \pm 189,41$ días desde huevo

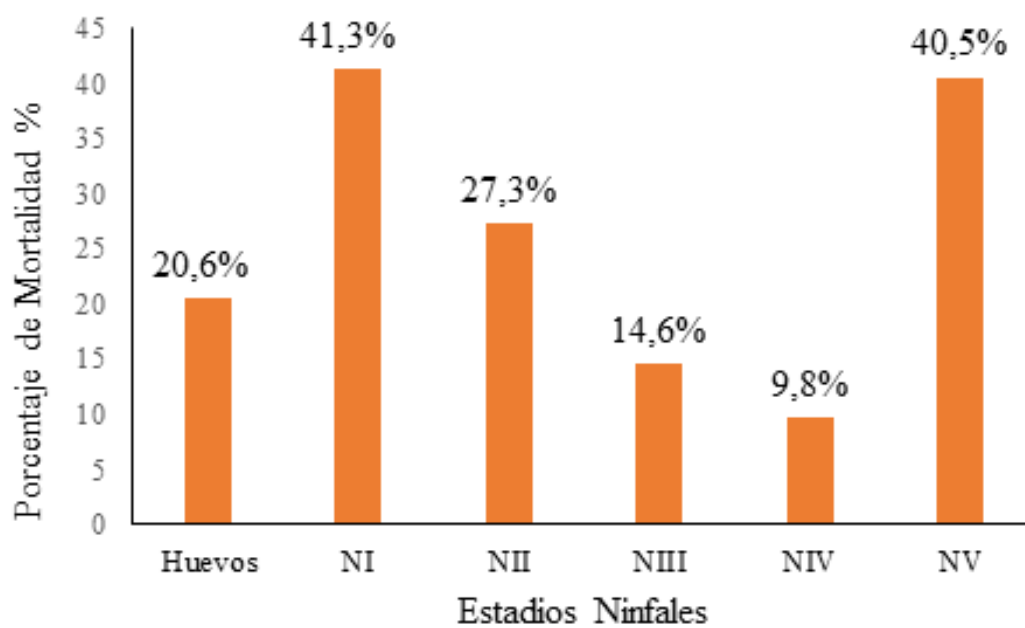


Figura 16. Porcentaje de mortalidad de *Triatoma carrioni* bajo condiciones controladas de laboratorio

Cálculos por estadios ninfales bajo condiciones controladas de laboratorio. Las barras de color naranja, indican el porcentaje de mortalidad por cada estadio ninfal.

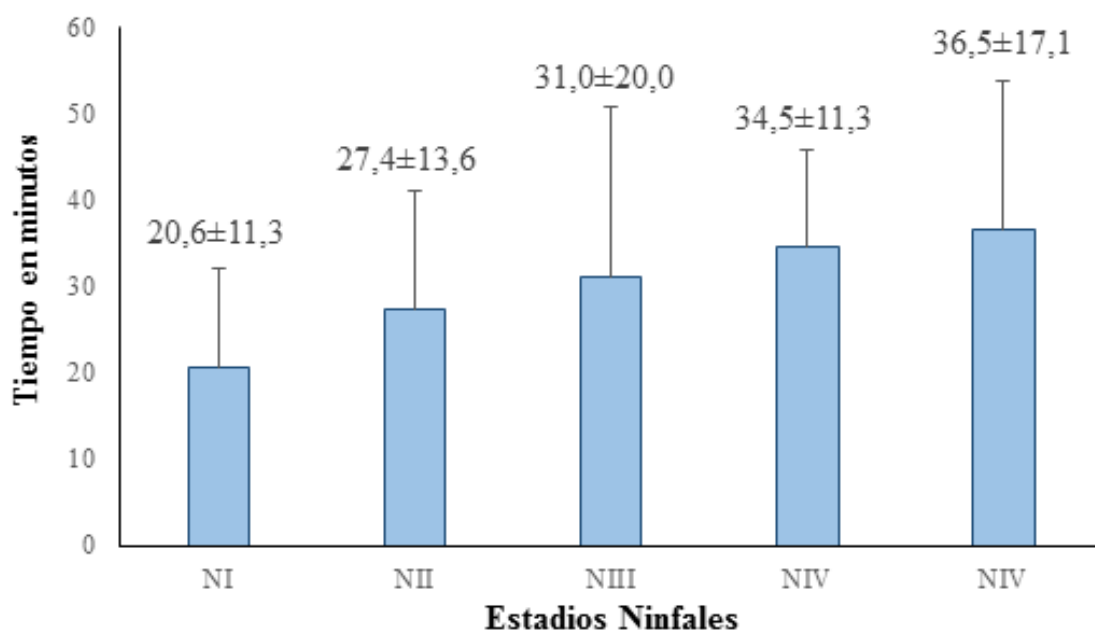


Figura 17. Tiempo (min) de alimentación de *Triatoma carrioni* bajo condiciones controladas de laboratorio.

Las barras de color celeste indican la media del tiempo de alimentación, y las líneas sobre las barras, representan la desviación estándar.

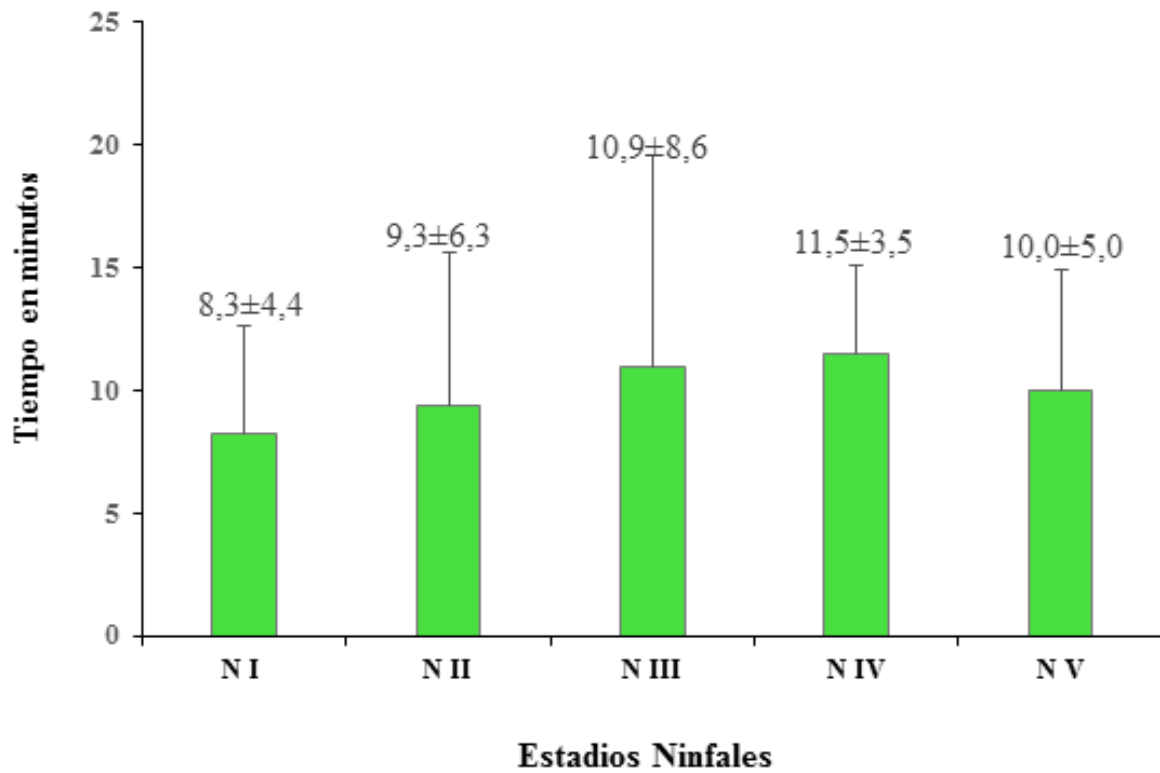


Figura 18. Ingreso de la proboscide de *Triatoma carrioni*

Tiempo calculado en minutos que le toma al triatomino según su estadio ninfal para encontrar la vena del hospedero, para su alimentación. Las barras de color verde indican la media del tiempo que le toma ingresar la probóscide al hospedero y las líneas sobre las barras muestran la desviación estándar.

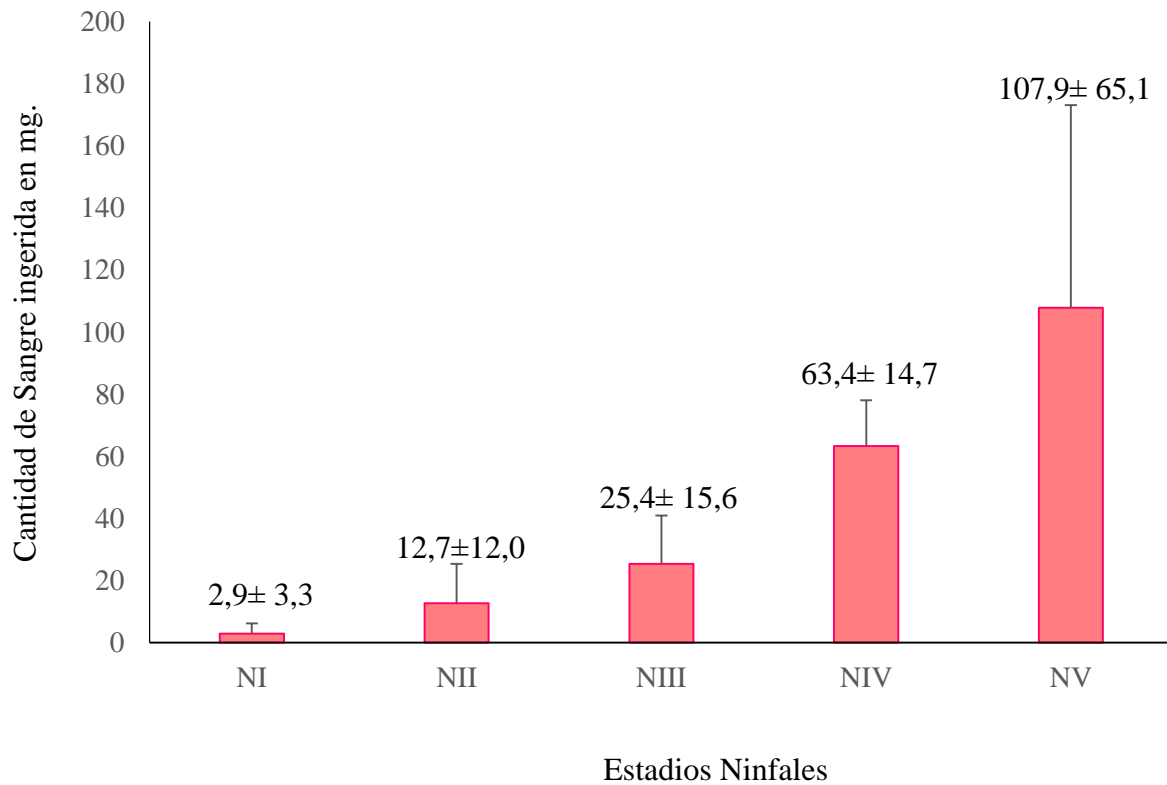


Figura 19. Miligramos de sangre ingerida de *Triatoma carrioni*.

Cantidad de alimento (sangre) en miligramos ingerido por *Triatoma carrioni* según su estadio ninfal, las barras indican la cantidad de sangre ingerida y las líneas sobre las barras, representan la desviación estándar.

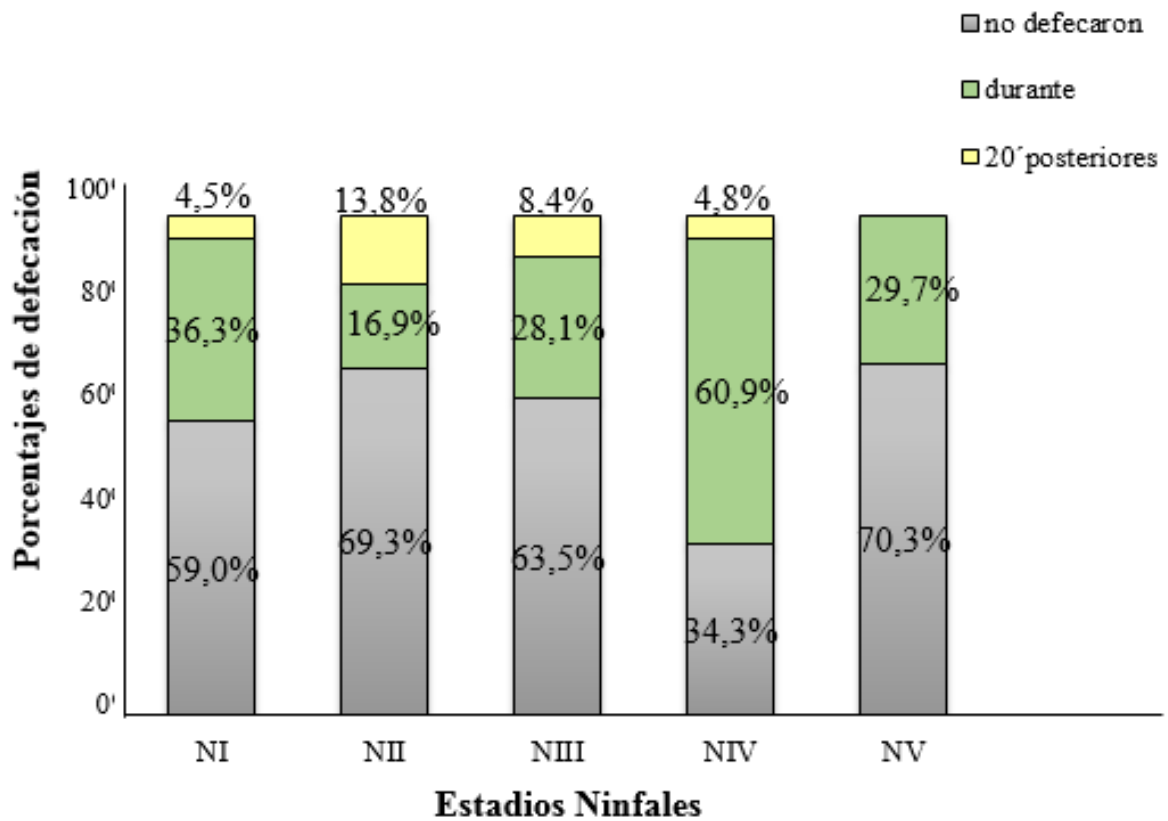


Figura 8. Defecación de *Triatoma carrioni* según el estadio ninfal.

En color verde se muestra el porcentaje de individuos que defecaron durante la alimentación y el color crema, indica el porcentaje de triatominos que defecaron en los 20 minutos posteriores a la alimentación. En color gris se observa el porcentaje de individuos que no defecaron durante la observación, o que no defecaron por que no se alimentaron.

11 TABLAS

Tabla 1. Analisis descriptivo del ciclo de vida de *Triatoma carrioni* bajo condiciones controladas de laboratorio.

Etapas de desarrollo	# de individuos	Amplitud						
		Mínimo	Máximo	\bar{x}	s	m	$q\ 25$	$q\ 75$
Huevo	68	18	41	29,04	4,87	29,00	27,75	33,00
NI	75	5	51	27,40	16,63	27,00	19,00	32,00
NII	66	14	123	51,75	27,97	43,50	28,75	65,00
NIII	48	17	105	58,88	24,77	56,00	42,00	70,50
NIV	41	40	181	121,57	52,02	125,00	90,00	157,50
NV	37	17	240	145,23	63,16	158,00	101,5	189,50
total	--	111	741	404,83	--	--	--	--

#: el número total de individuos por estadio. \bar{x} : media, o promedio de días para cada estadio ninfal; s : desviación estándar; m : mediana de días para cada estadio ninfal, $q25$: rango intercuartílico al 25%; $q75$: rango intercuartílico al 75%

Tabla 2. Mortalidad de *Triatoma carrioni*.

Etapas de desarrollo	<i>lx</i>	<i>dx</i>	%
Huevo	68	14	20,6
NI	75	31	41,3
NII	66	18	27,3
NIII	48	7	14,6
NIV	41	4	9,8
NV	37	15	40,5
Adulto	22	0	0,0

lx: número de triatominos en cada estadio ninfal, ***dx***: número de triatominos muertos en cada estadio

Tabla 3. Hábitos de alimentación (tiempo mínimo y máximo (minutos) de alimentación) de *Triatoma carrioni* en condiciones de laboratorio alimentadas con *Mus musculus*

Etapas de desarrollo	Amplitud			
	Tiempo Mínimo (min)	Tiempo Máximo (min)	\bar{x}	<i>s</i>
NI	2,1	50,2	20,6	11,4
NII	5,4	51,1	27,4	13,6
NIII	2,3	80,0	31,0	19,8
NIV	8,0	80,0	34,5	11,3
NV	11,5	80,0	36,5	17,1
Total	29,2	341,4	149,9	73,2

\bar{x} : promedio de días para cada estadio ninfal, *s*: desviación estándar

Tabla 4. Tiempo (minutos) de ingreso de los probóscide de *Triatoma carrioni* en condiciones de laboratorio alimentadas con *Mus musculus*

Etapas de desarrollo	Amplitud			
	Tiempo Mínimo (min)	Tiempo Máximo (min)	\bar{x}	<i>s</i>
NI	0,5	19,3	8,2	4,4
NII	3,0	20,0	9,3	6,3
NIII	2,3	20,5	10,9	8,6
NIV	2,2	20,2	11,5	3,5
NV	1,0	16,0	10,0	4,9
Total	8,9	96,0	50,0	27,8

\bar{x} : promedio de días para cada estadio ninfal, *s*: desviación estándar

Tabla 5. Dinámica de defecación de *Triatoma carrioni* durante y posterior a la alimentación

Etapas de desarrollo	# total triatominos	Tiempo (minutos) mínimo de la primera defecación durante la alimentación	Tiempo máximo (minutos) de la primera defecación durante la alimentación	% de triatominos que defecaron durante la alimentación	# de triatominos que defecaron durante la alimentación	% de triatominos que defecaron después de la alimentación	# de triatominos que defecaron posterior a la alimentación	% de triatominos que no defecaron durante la observación	# de triatominos que no defecaron durante la observación
NI	75	5,4	51,13	33,3	26	4,5	4	59,2	45
NII	66	4	42,4	16,9	12	13,8	10	69,3	44
NIII	48	2	66,4	28,1	14	8,4	4	63,5	30
NIV	41	2	70,51	60,9	25	4,8	1	34,3	15
NV	37	0,18	75	29,7	11	0	0	70,3	26

Tabla 6. Resumen de hábitos de alimentación y defecación de *Triatoma carrioni* bajo condiciones de laboratorio alimentadas con *Mus musculus*

Estadio Ninfal	N	Tiempo de ingreso de la probóscide al hospedero	Tiempo de alimentación	sangre ingerida (mg)	Tiempo de primera defecación	% de defecación durante la alimentación
		Tiempo en minutos				%
		m ± s I C 95%	m ± s I C 95%	m ± s I C 95%	m ± s I C 95%	I C 95%
NI	75	8,3 ± 4,4	20,6 ± 11,4	2,9 ± 3,3	9,8 ± 10,58	36.3
		6,96 - 9,54	17,2 - 23,9	1,9 - 3,9	6,7 - 12,9	34,0– 63,7
NII	66	9,3 ± 6,3	27,4 ± 13,6	12,7 ± 12,6	16,2 ± 10,7	16.9
		7,8 - 9,5	24,1 - 31,4	9,7 - 16,5	13,6 - 19,3	7,8 - 83,1
NIII	48	10,9 ± 8,6	31,0 ± 19,8	25,4 ± 15,6	29,4 ± 18,1	28.1
		8,5 - 13,5	25,4 - 36,8	20,9 - 29,8	24,24 - 34,46	15,4 - 71,9
NIV	41	11,5 ± 3,5	34,5 ± 11,3	63,4 ± 14,7	36,1 ± 19,6	60.9
		10,4 - 12,6	31,0 - 37,9	58,8 - 67,89	30,1 - 42,1	39,1 – 63,2
NV	37	10,0 ± 4,9	36,5 ± 17,	107,9 ± 65,2	27,1 ± 24,7	29.7
		8,4 - 11,5	30,9 - 41,9	86,9 - 128,9	19,1 - 34,9	14,9 - 70,3

12 ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado utilizado para ingresar a cada una de las viviendas para la recolección de triatominos.



C I E I
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN ENFERMEDADES
INFECCIOSAS
Escuela de Biología
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



Investigación de Enfermedad de Chagas en Ecuador
Ohio University, Universidad Católica del Ecuador y Ministerio de Salud Pública del Ecuador
Formulario de Consentimiento Informado. Parte 1A. ENTOMOLOGÍA

Nombres _____ **Apellidos** _____

Comunidad _____

Objetivo del Proyecto: La enfermedad de Chagas afecta a mucha gente en Ecuador. Este proyecto de investigación quiere saber si hay esta enfermedad en su comunidad y porqué. Pedimos su ayuda voluntaria. Su participación ayudará a obtener información valiosa que ayudará a diseñar maneras de controlar y prevenir esta enfermedad. Este estudio incluirá a unas 2000 viviendas aproximadamente.

Participación voluntaria: Usted puede elegir libremente participar o no participar en absoluto en este proyecto de investigación. No habrá ningún tipo de penalización si usted no desea participar. Si se niega a participar Ud. no perderá ninguno de los beneficios de atención de salud que existen normalmente para Ud. Para que usted pueda participar en este proyecto, es necesario que usted entienda lo que se necesita de usted. Si usted acepta colaborar voluntariamente con nosotros, debe firmar (o poner su huella digital) en la línea disponible abajo en este formulario.

Usted puede dejar de participar en este proyecto en cualquier momento sin necesidad de dar ninguna explicación. De igual manera, los investigadores pueden terminar la participación de Ud. en el mismo. Si éste es el caso, usted será notificado. No hay costo para participar en esta investigación. Si usted tiene dudas sobre la investigación o sobre sus derechos en este proyecto de investigación, por favor pregunte al entrevistador o contacte a las personas nombradas abajo.

Encuesta sobre la vivienda y cuestionario de conocimientos: Un entrevistador solicitará que usted responda a varias preguntas relacionadas con su casa, sus hábitos o costumbres, y sobre usted mismo.

Estas preguntas se refieren a varios factores asociados a la enfermedad de Chagas (tiempo estimado 5 minutos).

Encuesta de insectos: Entomólogos experimentados buscarán la presencia de chinchorros, dentro y alrededor de su casa durante un tiempo de 30 minutos. Si se encuentran chinchorros, personal del Ministerio de Salud (SNEM) le pedirán permiso para preparar su casa para que ésta sea fumigada con un insecticida piretroide. Si usted acepta esto, el personal del SNEM le ayudará a sacar de su casa toda la comida, los utensilios de cocina, ropa y colchones. La preparación y fumigación de su vivienda se llevará a cabo por un tiempo aproximado de 60 minutos.

Confidencialidad: Toda la información que usted proporcione será mantenida confidencialmente y utilizada solamente para propósitos de la investigación sin conexión a su nombre. Los resultados generales, serán compartidos con el Ministerio de Salud Pública del Ecuador y con su comunidad.

Riesgos: los riesgos potenciales asociados a su participación en esta investigación son la pérdida de la confidencialidad de la información, y posibles molestias ocasionadas por el insecticida. El asignar un código a toda su información y desligarlo de cualquier referencia a su identificación personal reducen al mínimo el riesgo de pérdida de confidencialidad. El insecticida aplicado por el Ministerio de Salud es muy seguro y es recomendado por la Organización Mundial de la Salud para control de insectos dentro de las casas. Sin embargo, en algunos casos puede causar picazón de la piel, dermatitis, alergia, congestión pulmonar o dolor de cabeza. Para reducir este riesgo es importante preparar bien las viviendas antes del rociamiento con los insecticidas sacando toda la ropa, implementos de cocina, comida y ropa de cama fuera de la casa y evitar ingresar a la vivienda por un período de 30 minutos. Si se presentan cualquiera de estas molestias, se recomienda lavar el área afectada con agua y jabón, salir de la vivienda a un lugar ventilado hasta que los síntomas desaparezcan. De no desaparecer, se recomienda que se consulte a un médico.

Beneficios

Los beneficios potenciales de su participación incluyen un incremento en el conocimiento sobre la prevención de la enfermedad de Chagas y la futura implementación de actividades de control e intervención, que tienen el potencial de mejorar la salud de su comunidad.

Declaración general de consentimiento: "Al firmar abajo, declaro que los investigadores a cargo de este proyecto me han explicado los propósitos y los beneficios y riesgos de la investigación, y que los he entendido plenamente. Entiendo claramente que no hay compensación monetaria por mi participación ni de parte de la Universidad de Ohio, ni de la PUCE ni de las otras instituciones implicadas, y/o de sus empleados, y que en caso de alguna lesión que pudiese sufrir por mi participación en esta investigación, se buscarán las prestaciones médicas necesarias sin costo para mí a través de las unidades del Ministerio de Salud". Al firmar abajo declaro que entiendo el alcance y los objetivos del Proyecto, y estoy dispuesto a participar voluntariamente.

Firma _____ Fecha: ____ de ____ del 201__

Firma del testigo (en caso de analfabetismo) _____ Fecha: ____ de ____ del 201__

Si tiene preguntas sobre esta investigación por favor comuníquese con el Lcdo. Esteban Baus, CIEI Universidad Católica del Ecuador. Ave. 12 de Octubre 1076 y Roca. Tel. (02) 299 1700 ext. 1856. Fax. (02) 299 1689 Email: egbaus@puce.edu.ec.

Si tiene preguntas sobre sus derechos como participante en esta investigación comuníquese con el Dr. Iván Carvajal, Comité de Ética, Universidad Católica del Ecuador Ave. 12 de Octubre 1076 y Roca. Tel. (02) 299 1533 ext. . Fax. 02 299 1656 Email: ICARVAJAL@puce.edu.ec.

Anexo 2. Ficha de vivienda utilizada durante la visita de las viviendas

Encuesta de vivienda	
Chagas en Ecuador	
# Estudio	B 0
Grupo	
Fecha	2 0 1
	día mes año
Localidad	Cantón
Provincia	Código de la vivienda
Jefe de Familia	Nombres Apellidos
Sección A. Información geográfica	
A1. Latitud (en grados decimales)	
A2. Longitud (en grados decimales)	
A3. Altitud (en metros)	
Sección B. Servicios	
B1. ¿Cuántos dormitorios tiene su casa?	
B2. ¿Cuántas personas duermen en la casa?	
B3. ¿Tiene servicio higiénico en la casa?	
	1= SI 2= NO
Sección C. Material predominante de la casa	
C1. Techo o cubierta	
	1 Losa 2 Asbesto o eternit 3 Zinc 4 Teja 5 Paja, palma, o similares 6 Otros, especifique
C2. Paredes	
	1 Hormigón, ladrillo o bloque 2 Adobe o tapia 3 Madera 4 Caña guadua revestida 5 Bahareque 6 Caña guadua no revestida
C3. Piso	
	1 Entablado rústico 2 Parquet 3 Baldosa o vinyl 4 Ladrillo o cemento 5 Caña guadua 6 Tierra 7 Otros materiales
Sección D. Intervención	
D1. 1. ¿Ha fumigado Ud. Mismo su casa?	
	1= SI 2= NO
D1.2. ¿Hace cuánto tiempo?	
Sección E. Tiene animales domésticos dentro o cerca de la casa	
D2.1. ¿Ha fumigado el Servicio de la Malaria (SNEM) su casa?	
	1= SI 2= NO
D2.2. ¿Hace cuánto tiempo?	
E1.1. gallinas o palomas u otras aves?	
	1= SI 2= NO
E1.2. ¿Cuántas gallinas u otras aves?	
E2.1. Perros?	
	1= SI 2= NO
E2.2. ¿Cuántos perros?	
E3.1. cuyes?	
	1= SI 2= NO
E3.1. ¿Cuántos cuyes?	
E3.1. gatos?	
	1= SI 2= NO
E3.2. ¿Cuántos gatos?	
Datos del responsable	
Nombre	
Firma	

Anexo 3 Ficha entomológica utilizada durante la visita de las viviendas

Ficha Entomológica para visitas a casas			
Estudio <input style="width: 40px;" type="text" value="B 0 1"/>	Grupo <input style="width: 40px;" type="text"/>	Fecha <input style="width: 40px;" type="text" value=" / / 2 0 1 1"/>	
<input style="width: 100%; height: 20px;" type="text" value="Localidad"/>	GPS <input style="width: 40px;" type="text"/>	<input style="width: 100%; height: 20px;" type="text" value="Cantón"/>	
<input style="width: 100%; height: 20px;" type="text" value="Provincia"/>	Camara <input style="width: 40px;" type="text"/>	<input style="width: 40px;" type="text" value="Código de la casa"/>	
Jefe de Familia <input style="width: 100%; height: 20px;" type="text" value="Nombres"/>		<input style="width: 100%; height: 20px;" type="text" value="Apellidos"/>	
Sección A (la casa será considerada positiva cuando se encuentre un triatmino vivo) <input style="float: right;" type="checkbox"/>			
1=Cerrada 2=Renueante 3=Deshabitada 4=No infestada 5=Infestada			
Sección B. Infestación intradomiciliar		Sección C. Infestación peridomiciliar	
B1. Alguno de los triatominos fue encontrado en el intradomicilio? <input style="float: right;" type="checkbox"/> 1=SI 2=NO		C1. Alguno de los triatominos fue encontrado en el peridomicilio? <input style="float: right;" type="checkbox"/> 1=SI 2=NO	
B2. Cuántos triatominos fueron encontrados en el intradomicilio <input style="float: right;" type="text" value="Total"/>		C2. Cuántos triatominos fueron encontrados en el peridomicilio <input style="float: right;" type="text" value="Total"/>	
B3. Qué especie fue encontrada en el intradomicilio		C3. Qué especie fue encontrada en el peridomicilio	
Especie _____ Huevos <input style="width: 40px;" type="text"/> Ninfas <input style="width: 40px;" type="text"/> Adultos <input style="width: 40px;" type="text"/> _____ Huevos <input style="width: 40px;" type="text"/> Ninfas <input style="width: 40px;" type="text"/> Adultos <input style="width: 40px;" type="text"/> _____ Huevos <input style="width: 40px;" type="text"/> Ninfas <input style="width: 40px;" type="text"/> Adultos <input style="width: 40px;" type="text"/> _____ Huevos <input style="width: 40px;" type="text"/> Ninfas <input style="width: 40px;" type="text"/> Adultos <input style="width: 40px;" type="text"/>		Especie _____ Huevos <input style="width: 40px;" type="text"/> Ninfas <input style="width: 40px;" type="text"/> Adultos <input style="width: 40px;" type="text"/> _____ Huevos <input style="width: 40px;" type="text"/> Ninfas <input style="width: 40px;" type="text"/> Adultos <input style="width: 40px;" type="text"/> _____ Huevos <input style="width: 40px;" type="text"/> Ninfas <input style="width: 40px;" type="text"/> Adultos <input style="width: 40px;" type="text"/> _____ Huevos <input style="width: 40px;" type="text"/> Ninfas <input style="width: 40px;" type="text"/> Adultos <input style="width: 40px;" type="text"/>	
B4. Lugar exacto dónde se encontraron los triatominos _____		C4. Lugar exacto dónde se encontraron los triatominos _____	
Sección D. Rociamiento de la vivienda		CTR= numero de cargas para rociamiento <input style="float: right;" type="text"/>	
D1. La casa fue rociada? <input style="float: right;" type="checkbox"/> 1=SI 2=NO		D3. Cuantos gramos de insecticida fueron utilizados <input style="float: right;" type="text"/>	
D2. Cálculo de la carga total de insecticida $CTR=4 \times H \times (A+L) + (1,5 \times A \times L)$		D4. Nombre del Rociador _____	
A= ancho de la casa <input style="float: right;" type="text"/> H= alto de la casa <input style="float: right;" type="text"/> L= Largo de la casa <input style="float: right;" type="text"/>			
Datos del Responsable Nombre _____		Firma _____	

Anexo 4. Cálculo del área de las viviendas para conocer cuánta carga de piretroide se debe utilizar en las mismas.

Programa piloto para el control de la Enfermedad de Chagas CIEIC/ PUCE Cálculo de área para rociamiento con piretroide

Altura (H)	Ancho (A)	Largo (L)	Calculo
2	4	5	102
2	4	6	116
2	4	7	130
2	4	8	144
2	4	9	158
2	4	10	172
2	4	11	186
2	4	12	200
2	4	13	214
2	4	14	228
2	4	15	242
2	4	16	256
2	4	17	270
2	4	18	284
2	4	19	298
2	4	20	312
2	5	5	118
2	5	6	133
2	5	7	149
2	5	8	164
2	5	9	180
2	5	10	195
2	5	11	211
2	5	12	226
2	5	13	242
2	5	14	257
2	5	15	273
2	5	16	288
2	5	17	304
2	5	18	319
2	5	19	335
2	5	20	350

Altura (H)	Ancho (A)	Largo (L)	calculo
2	7	5	149
2	7	6	167
2	7	7	186
2	7	8	204
2	7	9	223
2	7	10	241
2	7	11	260
2	7	12	278
2	7	13	297
2	7	14	315
2	7	15	334
2	7	16	352
2	7	17	371
2	7	18	389
2	7	19	408
2	7	20	426
2	8	5	164
2	8	6	184
2	8	7	204
2	8	8	224
2	8	9	244
2	8	10	264
2	8	11	284
2	8	12	304
2	8	13	324
2	8	14	344
2	8	15	364
2	8	16	384
2	8	17	404
2	8	18	424
2	8	19	444
2	8	20	464

Anexo 6. Tabla de ciclo de vida para anotación del proceso de muda (presencia de exuvia), por fechas, y estadio ninfal de cada individuo

CICLO DE VIDA

Especie

Código

Ninfa I		Ninfa II		Ninfa III		Ninfa IV	
---------	--	----------	--	-----------	--	----------	--

Ninfa V		Adulto		Sexo		Muerte	
---------	--	--------	--	------	--	--------	--

Código

Ninfa I		Ninfa II		Ninfa III		Ninfa IV	
---------	--	----------	--	-----------	--	----------	--

Ninfa V		Adulto		Sexo		Muerte	
---------	--	--------	--	------	--	--------	--

Código

Ninfa I		Ninfa II		Ninfa III		Ninfa IV	
---------	--	----------	--	-----------	--	----------	--

Ninfa V		Adulto		Sexo		Muerte	
---------	--	--------	--	------	--	--------	--

Código

Ninfa I		Ninfa II		Ninfa III		Ninfa IV	
---------	--	----------	--	-----------	--	----------	--

Ninfa V		Adulto		Sexo		Muerte	
---------	--	--------	--	------	--	--------	--

Anexo 7. Tabla de hábitos de alimentación y defecación. Ficha utilizada para anotar cada uno de los pesos (mg) y tiempos (min) de los individuos analizados por separado.

Proyecto Insectario CIEIC/ UEM
Hábitos de Alimentación y Defecación

Código	
Peso Inicial	
Peso Final	
T de Ingreso de Probóscide	
T de Alimentación	
T Defecación	
T defecación posterior	

Código	
Peso Inicial	
Peso Final	
T de Ingreso de Probóscide	
T de Alimentación	
T Defecación	
T defecación posterior	

Código	
Peso Inicial	
Peso Final	
T de Ingreso de Probóscide	
T de Alimentación	
T Defecación	
T defecación posterior	

Código	
Peso Inicial	
Peso Final	
T de Ingreso de Probóscide	
T de Alimentación	
T Defecación	
T defecación posterior	

Código	
Peso Inicial	
Peso Final	
T de Ingreso de Probóscide	
T de Alimentación	
T Defecación	
T defecación posterior	

Código	
Peso Inicial	
Peso Final	
T de Ingreso de Probóscide	
T de Alimentación	
T Defecación	
T defecación posterior	

Anexo 8. Cálculo de Kruskal- Wallis obtenido del ciclo de vida de *Triatoma carrioni* mediante el programa SPSS (v20)

Tests of Normality

VAR00002	Kolmogorov-Smirnov ^a		
	Statistic	df	Sig.
VAR00001 1	,148	199	,000

a. Lilliefors Significance Correction

Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	Estadio_Ninfal	N	Mean Rank
N_dias_muda	1	52	43,88
	2	47	88,41
	3	42	100,39
	4	36	158,06
	5	22	161,64
	Total		199

Anexo 9. Cálculo de Kruskal- Wallis obtenido del ciclo de vida de *Triatoma carrioni* mediante el programa SPSS (v20) Continuación.....

	N_dias_muda
Chi-Square	113,126
Df	4
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Estadio_Ninfal

La prueba estadística de normalidad indica no haber medidas iguales para los estadios ninfales de *T. carrioni*, por lo que se utiliza la prueba de Kruskal Wallis que permite ver una diferencia altamente significativa entre los cinco estadios ninfales.

Anexo 10. Analisis estadisticos para alimentación de *Triatoma carrioni* mediante el programa SPSS (v. 20).

Prueba de Normalidad

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a		
	Statistic	df	Sig.
AR00001	,092	205	,000

Test of Homogeneity of Variances

VAR00001

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,920	4	200	,108

ANOVA

LogTIEMPO

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,703	4	,426	7,407	,000
Within Groups	11,496	200	,057		
Total	13,199	204			

Anexo 11. Analisis estadísticos para alimentación de *T. carrioni* mediante el programa SPSS (v. 20). Continuación....

Homogeneous Subsets

logTIEMPO

Tukey HSD

VAR0000	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1,00	29	1,2605		
2,00	58	1,4016	1,4016	
3,00	46		1,4338	1,4338
4,00	39		1,4971	1,4971
5,00	33			1,5704
Sig.		,077	,406	,094

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 38,638.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

Los resultados indican que no existe normalidad en los datos para alimentación, mientras la prueba de Tukey, indica tres grupos entre los estadios ninfales, donde NI y NII forman el primer grupo, NII, NIII, y NIV forman el segundo grupo, y el tercer grupo lo conforman NIII, NIV, NV.

Anexo 12. Análisis estadístico de Kruskal Wallis mediante el programa SPSS (v. 20) para el cálculo de tiempo de *Triatoma carrioni*, para encontrar la vena para su alimento

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a		
	Statistic	df	Sig.
VAR00001	1	212	,000

Test of Homogeneity of Variances

VAR00001

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,458	4	201	,216

ANOVA

VAR00001

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	301,208	4	75,302	2,397	,052
Within Groups	6315,355	201	31,420		
Total	6616,563	205			

Anexo 13. Análisis estadístico de Kruskal Wallis mediante el programa SPSS (v. 20) para el cálculo de tiempo de *Triatoma carrioni*, para encontrar la vena para su alimento *Continuación...*

	t_picada
Chi-Square	9,629
Df	4
Asymp. Sig.	,047

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: estadio_ninfal

Las diferencias son significativas para cada estadio ninfal en la variable tiempo para encontrar la vena del hospedero, mediante Kruskal Wallis, se observa un $p=0,47$ donde se concluye que no existen diferencias significativas.

Anexo 14. Tiempo que le toma a *Triatoma carrioni* alimentarse completamente (min), analizado mediante el programa SPSS (v. 20)

Test Statistics^{a,b}

	t_alimentacion
Chi-Square	25,192
df	4
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: estadio_ninfa

Al analizar mediante la prueba Kruskal Wallis, se observa diferencias altamente significativas en cuanto al tiempo que necesita cada estadio ninfa para completar su alimentación.

Anexo 15. Defecación durante la alimentación de *Triatoma carrioni* calculada a partir del número de deyecciones. Análisis realizado mediante el programa SPSS (v. 20)

	Defecación
Chi-Square	20,240
Df	4
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: estadio_ninfal

Mediante la prueba Kruskal Wallis, se observa diferencias altamente significativas en cuanto a las deyecciones de *Triatoma carrioni*, durante la alimentación.

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Fátima Anabel Padilla Narváez, C.I. 172003957-5 autora del trabajo de graduación intitulado “Ciclo de vida, hábitos de alimentación y defecación, de *Triatoma carrioni* (Larrouse, 1926) pertenecientes a la provincia de Loja, bajo condiciones controladas de laboratorio.”, previa a la obtención del grado académico de LICENCIADA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Quito, 2016

Srta. Fátima Anabel Padilla Narváez

C. I. 172003957-5