

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
PROGRAMA EXPERIENCIAS DOCENTES CON LA COMUNIDAD
SUBPROGRAMA EDC-BIOLOGIA

INFORME FINAL INTEGRADO DE EDC
LABORATORIO DE ENTOMOLOGIA APLICADA Y PARASITOLOGIA. (LENAP)
PERIODO DE REALIZACION
ENERO 2013 – ENERO 2014

SALVADOR ATONIO CASTELLANOS MURGUIA
PROFESOR SUPERVISOR DE EDC: Licda. GABRIELA ARMAS
ASESOR INSTITUCIONAL: Licda. Infieri RAQUEL LIMA
Vo.Bo. ASESOR INSTITUCIONAL

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
PROGRAMA EXPERIENCIAS DOCENTES CON LA COMUNIDAD
SUBPROGRAMA EDC-BIOLOGIA

INFORME FINAL DE SERVICIO Y DOCENCIA
LABORATORIO DE ENTOMOLOGIA APLICADA Y PARASITOLOGIA. (LENAP)
PERIODO DE REALIZACION
ENERO 2013 – ENERO 2014

SALVADOR ATONIO CASTELLANOS MURGUIA
PROFESOR SUPERVISOR DE EDC: Licda. GABRIELA ARMAS
ASESOR INSTITUCIONAL: Licda. Infieri RAQUEL LIMA
Vo.Bo. ASESOR INSTITUCIONAL

Contenido

INTRODUCCION	102
RESUMEN DE ACTIVIDADES	103
ACTIVIDADES DE SERVICION PRE ESTABLECIDO	4
ACTIVIDADES DE SERVICIO	4
ACTIVIDADES DE DOCENCIA	6
ACTIVIDADES DE SERVICIO UNIDAD LENAP	7
ACTIVIDADES DE DOCENCIA UNIDAD LENAP	100
ACTIVIDADES DE INVESTIGACION	122
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.	133
ANEXOS SERVICIO PREESTABLECIDO	144
ANEXOS UNIDAD LENAP.....	145

INTRODUCCION.

El programa de Experiencias Docentes con la comunidad (EDC), es una experiencia en la cual el estudiante de biología tiene la oportunidad de devolver o retribuir al pueblo o la comunidad Guatemalteca; esto se obtiene a lo largo de la formación profesional del alumno y buscando una manera de aplicar lo aprendido en la carrera de biología, y sacar un beneficio de ello. Tiene como propósito inducir al estudiante a la práctica de las Ciencias Biológicas en forma de servicio, docencia e investigación de manera que se prepare el estudiante para su EPS, de la misma manera divulgando la realidad ambiental que se vive hoy en día y contribuyendo al desarrollo humano encaminando al estudiante a llegar a interactuar con las comunidades.

En dicho trabajo se dan a conocer las actividades de servicio, docencia e investigación, que se llevaron a cabo durante el periodo de EDC asignado 2013-2014 en el Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología, LENAP.

Durante los meses de Febrero a Mayo del 2013 se llevaron a cabo las prácticas de servicio y docencia tanto de las áreas preestablecidas que consistió en brindar apoyo a una colección zoológica y una colección botánica las cuales fueron seleccionadas y programadas por los supervisores de EDC, como en la unidad de trabajo seleccionada por el estudiante; siendo en este caso el LENAP. En el presente informe final, se presentan las actividades desarrolladas durante los 6 meses establecidos por EDC para la elaboración de prácticas de servicio y docencia.

En total se han acumulado 519 horas distribuidas en un Servicio preestablecido llevado a cabo en el Museo de Historia Natural, centrándose en la colección de mamíferos y aves bajo el cargo del Dr. Juan Fernando Hernández La segunda parte del servicio preestablecido se realizó con la colección de hongos del Herbario BIGU, bajo el cargo de la Licda. Roxanda López, en donde se brindó apoyo y mantenimiento en la colección de hongos del Herbario BIGU, actividades rutinarias de mantenimiento y limpieza de la unidad, y revisión de la base de datos.

En la unidad académica LENAP escogida, se apoyó a la base de datos y ordenamiento de material de la biblioteca de LENAP, alimentación de chinches, apoyo en logística de eventos, limpieza de Bioterio, y apoyo en diferentes áreas tales como limpieza de cristalería y de equipo de laboratorio, apoyo en cotizaciones de equipo para la unidad académica.

La Docencia realizada en la unidad de LENAP consistió en la participación en el curso de Formación Profesional de Principios de Biología Molecular, el curso no se logró terminar debido a problemas con los horarios, se tuvo participación en el curso de Bioética de la NSF, así mismo, se asistió a una gira de campo realizada en el departamento de Petén.

RESUMEN DE ACTIVIDADES

No.	PROGRAMA	ACTIVIDAD	CALENDARIZACIÓN	HORAS EDC
SERVICIO				
1	Servicio y Docencia	Elaboración de Diagnóstico, Plan de Trabajo e informes	Enero - Junio	80hrs. (40S)
2	Servicio	Servicio preestablecido- Colecciones Zoológicas	Febrero	40hrs.
3	Servicio	Servicio preestablecido- Colecciones Botánicas	Febrero	40hrs.
4	Servicio	Elaboración de Muestrarios	25 Abril	5hr 30 min.
5	Servicio	Alimentación de las chinches	Marzo - Junio	74hrs.
6	Servicio	Mantenimiento de Bioterio.	Marzo - Junio	36hrs.
7	Servicio	Colaboración en diferentes áreas.	Marzo - Junio	58hrs 30 min.
8	Servicio	Apoyo en la Biblioteca.	Marzo - Junio	53hrs.
9	Servicio	Apoyar logística de eventos.	Marzo- Junio	12hrs.
10	Servicio	Apoyo invitadas de Estados Unidos.	26 Abril	4 hrs.
11	Servicio	Mantenimiento área nueva LENAP	Marzo-Junio	5hrs
12	Servicio	Ingreso Muestras de sangre de Olopa	Marzo-Junio	6hrs
13	Servicio	Ingreso chinches a la colección.	Marzo-Junio	7hrs. 30min
14	Servicio	Actualización Cartelera LENAP.	Junio	8hrs.
			TOTAL SERVICIO	389.5hrs
DOCENCIA				
15	Servicio y Docencia	Elaboración de Diagnóstico, Plan de Trabajo e informes	Enero - Junio	80hrs. (40D)
16	Docencia	Docencia recibida en la sección de hongos- BIGU	Febrero	7hrs.

17	Docencia	Curso FP Fundamentos de Biología Molecular.	Enero-Junio	15hrs 30min
18	Docencia	Gira de campo a cuevas de Peten	Abril 8-11	40hrs.
19	Docencia	Laboratorio de PCR en INVIGEM.	27 Abril	6hrs.
20	Docencia	Curso de Bioética de la NSF	Mayo	8hrs.
21	Docencia	Diseción de Chinchas	Mayo	10hrs.
22	Docencia	Sesión en relación al uso de laboratorios de Biología Molecular de LENAP.	Mayo	3hrs.
			TOTAL DOCENCIA	129hrs. 30 min
INVESTIGACION				
23	Investigación	Elaboración de perfiles, protocolos e informes.	Marzo-Septiembre	25hrs.
24	Investigación	Proceso de determinación genética de fuentes alimenticias. (amplificación, corrida y lectura)	Abril-Septiembre	36hrs.
25	Investigación	Ordenamiento y análisis de datos	Agosto-Septiembre	65hrs.
26	Investigación	Elaboración de informe final.		65hrs.
			TOTAL INVESTIGACION	185hrs

Por último se han acumulado 140.5 horas de investigación distribuidas en la elaboración de informes, perfiles y protocolos, amplificación de ADN, corrida de electroforesis y lectura de las bandas de ADN.

ACTIVIDADES DE SERVICIO PRE- ESTABLECIDO

ACTIVIDADES DE SERVICIO.

Actividad No. 1: Ordenar la colección de aves.

- OBJETIVOS: Separar los especímenes según familias, y mantener un orden para facilitar el ingreso de nuevos especímenes a la colección.
- DESCRIPCION: Separar cada uno de los especímenes dentro de la colección de aves, guiándose en la base de datos, para poder clasificar cada individuo según la especie, lugar de colecta, número de registro, etc.
- RESULTADOS FINALES: Separación según familias de la colección de aves de MUSHNAT, se logró un mayor de los especímenes que conforman la colección de aves.

- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: ciertos especímenes no contaban con la información necesaria para poder ser identificada y separados en familias.

Actividad No. 2: Ingreso de información a la base de datos de mamíferos.

- OBJETIVOS: Mantener un registro de los especímenes que están siendo ingresados a la colección zoológica de mamíferos.
- DESCRIPCION: Ingresar información en la base de datos digital (Specify) la cual permite ordenar la información individual de cada espécimen colectado llenando campos tales como fecha de colecta, familia, genero, especie, colector, lugar de colecta, persona que realizó la taxidermia del ave, otras observaciones; durante las giras de campo, al igual que la asignación de un número de registro a cada espécimen.
- RESULTADOS FINALES: base de datos de mamíferos actualizada. Se logró que la base de datos esté actualizada según los especímenes que se colectaron en giras de campo previas y que aún no se habían podido ingresar al programa.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: Ninguna

Actividad No. 3: Preparación y taxidermia de aves para la colección.

- OBJETIVOS: Aprender los métodos de preparación de aves para ser ingresadas a la colección de aves del MUSHNAT.
- DESCRIPCION: Primero se sacaban los especímenes de un congelador que los preservaba, luego de descongelarlos y lavarlos, se secaban y se realizaba un muñeco con algodón que daría forma al ave. Por último se cocía el espécimen por el abdomen y se le colocaba su correspondiente etiqueta antes de ser ingresada a la colección.
- RESULTADOS FINALES: Preparación de 14 especímenes de aves que se ingresaron a la colección de aves del MUSHNAT, logrando preparar 14 especímenes.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: ciertos especímenes se encontraban rasgados por lo que costaba su preparación.

Actividad No. 4: Ingreso de información a la base de datos de aves.

- OBJETIVOS: Mantener un registro de los especímenes que están siendo ingresados a la colección zoológica de aves.
- DESCRIPCION: Ingresar información de los especímenes de aves colectados utilizando el programa de Excel, en la cual se llenaban los campos de fecha de colecta, familia, genero, especie, colector, lugar de colecta, persona que realizo la taxidermia del ave, otras observaciones; durante las giras de campo, al igual que la asignación de un número de registro a cada espécimen.
- RESULTADOS FINALES: Base de datos de aves ya preparadas actualizada de los especímenes que se colectaron en giras previas y que aún no habían podido ser ingresados al programa.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: ninguna

Actividad No. 5: Elaboración de afiche para la sección de aves del MUSHNAT.

- **OBJETIVOS:** Realizar un afiche para que todas las personas que visiten el museo puedan comprender el proceso de preparación de las aves en la colección.
- **DESCRIPCION:** Por medio de Publisher se realizó un afiche que indicaba los pasos que se cumplen para poder preparar un ave para poder ser ingresada a una colección.
- **RESULTADOS FINALES:** Afiche que será utilizado en la cartelera del MUSHNAT para la vista de los visitantes.
- **LIMITACIONES Y DIFICULTADES:** Ninguna

Actividad No. 6: Colaboración en el ingreso de artículos científicos a la base de datos.

- **OBJETIVOS:** ingresar artículos científicos que han sido descargados en la sección de macro hongos del BIGU y que permita una búsqueda rápida de los mismos.
- **DESCRIPCION:** Se recopiló información tal como autores, título del artículo, año, palabras clave, etc. que permitirían el acceso rápido a los artículos al momento de realizar una búsqueda.
- **RESULTADOS FINALES:** Una base de datos de todos los artículos que han sido descargados, y que permiten el acceso rápido al realizar una búsqueda.
- **LIMITACIONES Y DIFICULTADES:** ninguna

Actividad No. 7: Colaboración en el mantenimiento apropiado de la colección de macro hongos.

- **OBJETIVOS:** revisar hongos de la colección en búsqueda de mohos que puedan dañar las muestras.
- **DESCRIPCION:** Se sacaron todas las cajas que guardaban los hongos de la colección y se revisaron minuciosamente para ver si no tenían moho, estos se volvían a colocar en sus respectivas cajas y se guardaban.
- **RESULTADOS FINALES:** mantenimiento de la colección de hongos y separación de los hongos que presentaban rastros de moho.
- **LIMITACIONES Y DIFICULTADES:** ninguna

ACTIVIDADES DE DOCENCIA.

Actividad No. 1: Identificación y determinación de hongos.

- **OBJETIVOS:** aprender métodos para poder determinar familias y géneros de hongos de la colección.
- **DESCRIPCION:** Se realizó una práctica de aprendizaje para poder determinar hongos en los cuales se utilizaron claves dicotómicas de hongos observando características microscópicas, al igual que la implementación de reactivos específicos que permitan ciertas reacciones distintivas según especie.

- RESULTADOS FINALES: Aprendizaje de los métodos de determinación de hongos, se lograron identificar 4 hongos de la colección.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: Ninguna

Actividad No. 2: Conferencia Paleopalynology of Crawford Lake and Victor Mine. Geology and fossils of northern Ontario during the Pliocene at Victor Mine, por Charles Turton.

- OBJETIVOS: que el estudiante se involucre en otras actividades que permitan el aprendizaje de nuevo conocimiento.
- DESCRIPCION: Impartida por Charles Turton Paleoecólogo del departamento de Ciencias de la Tierra del Museo Real de Ontario, Canadá, en el cual demostró una técnica para poder separar polen de diferentes estratos geológicos utilizando núcleos de sustrato y procesos de marcha ligera para separar polen del resto de materia, determinando así su edad aproximada y demostrando una idea de los paisajes a lo largo de determinado tiempo.
- RESULTADOS FINALES: Aumentar el interés en temas relacionados a la carrera de Biología, y conocer estudios que han realizado otros profesionales que ejercen su profesión fuera del país.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: Ninguna

Actividad No. 3: Laboratorio de marcha ligera.

- OBJETIVOS: que el estudiante comprenda la metodología para la separación de polen.
- DESCRIPCION: Por medio de una técnica denominada marcha ligera se logró separar polen por medio de acetólisis del resto de materia orgánica dentro de un núcleo (tubo colector de sustrato).
- RESULTADOS FINALES: La separación de polen de diferentes sustratos que después fueron observados en el microscopio, permitiendo el aprendizaje de métodos para la separación efectiva de polen.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: Ninguna

ACTIVIDADES DE SERVICIO UNIDAD LENAP

Actividad No. 1: Alimentar Chinchas.

- OBJETIVOS: Mantener el cultivo de chinchas en buenas condiciones.
- DESCRIPCION: Se colocaron los ratones que se han tenido en cautiverio en una malla metálica con el fin de inmovilizar al ratón, sin que éste sea asfixiado. Luego se coloca dentro de una caja, y sobre la malla que contiene dentro al ratón, se colocan las chinchas para que se alimenten aproximadamente por una hora, por último se remueven a las chinchas, luego se sacan los ratones y se colocan en sus cajas, por último se lavan las mallas y las cajas que se utilizaron para la alimentación.

- RESULTADOS FINALES PARCIALES: Se logro aumentar los cultivos de triatomíneos para el Bioterio de LENAP, los cuales son utilizados para llevar a cabo diferentes investigaciones.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: La poca cantidad de ratones no permitía que se pudieran alimentar las chinches en ciertas fechas.

Actividad No. 2: Mantenimiento de Bioterio.

- OBJETIVOS: Mantener un orden y limpieza del área.
- DESCRIPCION: Se limpió el área completamente, desinfectando las mesas de trabajo y cristalería, se guardo todo el equipo en su lugar, se llevo a cabo el cuidado necesario con las ratas de experimentación cambiándoles las cajas, viruta, agua y concentrado. Además se lavaron las mallas metálicas utilizadas para inmovilizar a los ratones cuando se dio de alimentar a las chinches. Finalmente se sacudió y barrió el Bioterio y se coloco el material y equipo en orden.
- RESULTADOS FINALES: Se limpio el bioterio 2 veces por semana, manteniendo limpieza y orden dentro de él.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: ninguna

Actividad No. 3: Colaboración en diferentes áreas.

- OBJETIVOS: Apoyo en diferentes áreas.
- DESCRIPCION: Limpieza de los salones de la unidad de LENAP, apoyo en compra de insumos tales como materiales de limpieza para laboratorios y bioterio, papel, concentrado para los ratones, viruta, etc.; apoyo en cotizaciones de materiales como por ejemplo la cotización de deshumificadores, limpieza de escritorios y equipo de computación, sacar fotocopias de encuestas de campo, limpieza de cristalería, esterilización de material de laboratorio, ingreso de reactivos de laboratorio, etc.
- RESULTADOS FINALES: Un laboratorio en óptimas condiciones.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: ninguna

Actividad No. 4: Apoyo Biblioteca. (Anexo 2)

- OBJETIVOS: Mantener los libros, tesis, informes de EPS, informes de EDC, revistas, artículos, etc. de la biblioteca del laboratorio en buen estado y tener registro actualizado de todos.
- DESCRIPCION: Con apoyo de las compañeras de EDC Andrea Delgado y Ericka Pérez se llevó a cabo el ingreso de los libros, tesis e informes de EPS, se pegaron etiquetas con código propio de cada libro para mantener un registro de los libros que salen y entran de la biblioteca, al igual se llenó la base de datos digital de libros, tesis e informes finales de EPS.
- RESULTADOS FINALES: Ingreso y orden de todos los libros, informes de EPS y tesis de la biblioteca de LENAP
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: ninguna

Actividad No. 5: Apoyar Logística de Eventos de las salidas de campo.

- OBJETIVOS: Organizar y preparar equipo y material necesario para las salidas de campo.
- DESCRIPCION: Preparar todo el material adecuado que se necesita llevar a las giras de campo, el equipo a preparar consiste en guantes, linternas, frascos plásticos, repelentes, pinzas, material didáctico de apoyo para las comunidades que se visitan.

- RESULTADOS FINALES: Se recopiló el material necesario para las giras de campo, permitiendo mayor orden y acceso rápido al equipo antes de cada salida de campo. LIMITACIONES Y DIFICULTADES: ninguna

Actividad No. 6: Elaboración de muestrarios del ciclo de vida de *T. dimidiata*.

- OBJETIVOS: Realizar muestrarios que serán utilizados por los miembros de la Unidad LENAP para poder enseñar acerca del principal transmisor de Chagas en Guatemala.
- DESCRIPCION: Se realizaron muestrarios de chinches utilizando cajas de Petri plásticas, duroport como base dentro de las cajas y posteriormente se pegaron las chinches siguiendo un orden según su ciclo de vida, dicho muestrario serán herramientas de apoyo en las giras de campo para mostrar el vector a las comunidades.
- RESULTADOS FINALES: se lograron realizar 15 muestrarios del ciclo de vida de *T. dimidiata* los cuales son utilizados en futuras *giras de campo* como material de aprendizaje.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: no habían suficientes chinches de ciertos estadios por lo que no se pudieron elaborar más muestrarios.

Actividad No. 7: Preparación de muestras de ADN y apoyo en el equipo de invitadas de los Estados Unidos.

- OBJETIVOS: Resolver la problemática del cebador de perro al igual que el manejo del programa Specify para la base de datos.
- DESCRIPCION: se apoyó en la visita de 3 invitadas extranjeras que venían a ayudar a los miembros de LENAP en el Área de Biología Molecular debido a dificultades y discordancias con el cebador de perro, también apoyaron en la capacitación para la utilización del programa Specify como nueva base de datos.
- RESULTADOS FINALES: una visita con éxito.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: ninguna.

Actividad No. 8: Mantenimiento del área nueva de LENAP.

- OBJETIVOS: Pintar y controlar la humedad por medio de deshumificadores del nuevo área de LENAP.
- DESCRIPCION: Se pintaron las paredes del área nueva al igual que las divisiones de la mesa, también se mantiene un control rutinario de los deshumificadores para evitar que el equipo se dañe, cambiando todos los días el depósito de agua de los deshumificadores.
- RESULTADOS FINALES: Área pintada y en óptimas condiciones.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: ninguna.

Actividad No. 9: Ingreso de Muestras de sangre de Olopa a base de datos.

- OBJETIVOS: Ingresar muestras de sangre a la base de datos.
- DESCRIPCION: Se ingresó en una base de datos utilizando el programa de Excel, las muestras de sangre que fueron tomadas en Olopa en las fechas de Abril a Junio en la base de datos, indicando la fecha de la toma de muestra, nombre del paciente, edad y aldea en la cual vive.
- RESULTADOS FINALES: Base de datos accesible y al día, ingreso de 60 muestras de sangre de Olopa a base de datos.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: Ninguna.

Actividad No. 10: Ingreso de chinches a la colección de especímenes de LENAP. (Anexo 1)

- OBJETIVOS: Ingresar especímenes de Huehuetenango a la base de datos (Excel) y colección de especímenes de LENAP.
- DESCRIPCION: Se ingresaron 130 especímenes de triatomos traídos de Huehuetenango a la base de datos, separándolas según especie de chinche, área donde se encontró, estadio, fecha y estado, ya sea muertas o vivas.
- RESULTADOS FINALES: Ingreso de especímenes de Huehuetenango a la base de datos.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: ninguna.

Actividad No. 11: Actualización de la cartelera de LENAP.

- OBJETIVOS: Mantener actualizada y al día la cartelera de LENAP para los lectores.
- DESCRIPCION: Se actualizó la cartelera colocando publicaciones del presente año de LENAP, al igual que artículos de temas de interés de LENAP; la cartelera se adornó con el fin de llamar la atención del lector.
- RESULTADOS FINALES: Se logró que la cartelera presente artículos y publicaciones recientes, al igual que los lectores se sintieran más atraídos por la presentación de los temas.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: Ninguna.

ACTIVIDADES DE DOCENCIA UNIDAD LENAP

Actividad No. 1: Recibir el curso de formación profesional (FP) de Fundamentos de Biología Molecular como oyente.

- OBJETIVOS: Profundizar en los temas de Biología Molecular.
- DESCRIPCION: Se asistió según el horario del curso de FP, llegando puntual a todas las clases impartidas por la Licenciada Elizabeth Solórzano, al igual que la presencia en laboratorios del curso de Formación profesional FP.
- RESULTADOS FINALES: Adquisición y profundización de temas de Biología Molecular, se lograron cumplir solamente 15 horas aproximadas del curso debido a complicaciones con el horario.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: Algunos días no se puede asistir al FP debido a traslapes con otras clases.

Actividad No. 2: Gira de Campo a cuevas de Petén.

- OBJETIVOS: Colectar chinches en diversas cuevas (Santa Isabel, El Eco, Cueva de la Marmolera, Cuevas de la escuela de la Marmolera). Consistió en ir a colectar chinches de cuevas en Peten por medio de colecta manual.
- DESCRIPCION: Se visitaron 5 cuevas cerca de Poptún en busca de chinches, la técnica se basó en colecta manual, por lo que cada miembro llevaba consigo una linterna de cabeza, unas pinzas y un frasco plástico; se iba revisando de arriba hacia abajo prestando atención a las grietas y hoyos, normalmente se revisaba de dos a tres veces el mismo punto para ver si las chinches no salían de donde se escondían.
- RESULTADOS FINALES: Se lograron colectar 24 chinches a lo largo de la gira de campo, por medio del método de colecta manual, y así mismo conociendo mejor los hábitos y preferencias de nicho por parte de estos organismos.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: ninguna

Actividad No. 3: Visita al Laboratorio de PCR en INVIGEM.

- OBJETIVOS: Conocer otras áreas que realizan pruebas de PCR y aprender nuevos métodos para la técnica.
- DESCRIPCION: Se hizo una visita a INVIGEM ubicado en el Hospicio San Jose, carretera a Bárcenas en el cual se logró aprender la técnica de PCR desde un enfoque humano. El laboratorio comenzó con una presentación introductoria en donde se planteaba el propósito de la practica a realizar, posteriormente se realizó un recorrido para conocer las instalaciones del laboratorio de INVIGEM. La práctica consistía en aprender las bases para pruebas de PCR.
- RESULTADOS FINALES: ampliar el conocimiento de la técnica de PCR.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: Ninguna.

Actividad No. 4: Curso de Bioética de la NSF.

- OBJETIVOS: Profundizar en temas de bioética que serán de apoyo para mejores prácticas tanto en laboratorio como en el mantenimiento del Bioterio.
- DESCRIPCION: Por medio de la Universidad de Vermont se está realizando un curso en línea de Bioética con el fin de que los miembros de la Unidad académica estén al tanto de los normativos de conducta en las unidades de investigación.
- RESULTADOS FINALES: Aprobación de 4 módulos de 11 del curso de Bioética.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: Organización de tiempo para poder dedicarle al curso en línea.

Actividad No. 5: Disección de Chinchas.

- OBJETIVOS: Comprender la manera correcta de realizar una disección de chinche para poder ser utilizada como muestra de estudio.
- DESCRIPCION: Consistió en colocar a las chinchas en portaobjetos, por medio de una pinza se sujeta a la chinche y con ayuda de otra se rompe la ampolla rectal para extraer residuos de su contenido estomacal (heces); una vez extraídas se adiciona una gota de solución salina en portaobjetos, se coloca el cubreobjetos y se observa en el microscopio en busca del parásito *T. cruzi*.
- RESULTADOS FINALES: Llevar un recuento de las chinchas infectadas con *T. cruzi* y las no infectadas, así mismo realizar de manera correcta las disecciones. Se realizaron 12 disecciones de las cuales no se logró encontrar parásito.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: La falta de conocimiento del parásito pudo haber dado falsos negativos al momento de detectar por la presencia del parásito.

Actividad No. 6: Sesión en relación al uso de los laboratorios de Biología Molecular de LENAP.

- OBJETIVOS: Dar a conocer las utilidades de cada anexo de LENAP, al igual que las responsabilidades de los que utilizan los laboratorios.
- DESCRIPCION: Se realizó una sesión en la cual se mostraron las funciones y los puestos en los que se realizaban las tareas relacionadas a Biología Molecular, como la extracción de ADN, amplificación, corridas y lecturas de ADN. También se dieron a conocer las tareas de los miembros que utilizan los laboratorios.
- OBJETIVOS FINALES: Se llegaron a conocer las actividades que se me encargaron tales como la limpieza de las cámaras de electroforesis y llenar los botes de reactivo TBR.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: Ninguna.

ACTIVIDADES DE INVESTIGACION

Actividad No. 1: Elaboración del perfil de investigación.

- **OBJETIVOS:** Aclarar y establecer el problema de investigación que se realizara durante el periodo de EDC.
- **RESULTADOS FINALES:** Se logró establecer el problema de investigación, al igual que otra información que formara parte del cuerpo de la investigación.
- **LIMITACIONES Y DIFICULTADES:** ninguna.

Actividad No. 2: Elaboración del protocolo de investigación.

- **OBJETIVOS:** Desarrollar con mas profundidad el cuerpo de lo que se pretende realizar como investigación de EDC.
- **RESULTADOS FINALES:** Se profundizo en el tema que se va a desarrollar para EDC, conociendo el diseño experimental, antecedentes del tema, problema de investigación, etc. para aclarar así también lo que se pretende desarrollar para dicha investigación.
- **LIMITACIONES Y DIFICULTADES:** ninguna

Actividad No. 3: Amplificación de ADN.

- **OBJETIVOS:** Amplificar el material colectado del estómago de la chinche “fuente alimenticia” y llevar acabo las diferentes amplificaciones según el cebador. (perro, ave, ratón, rata, cerdo y humano). Realizar amplificación utilizando cebador de *T. cruzi* para establecer presencia o ausencia del parasito.
- **RESULTADOS FINALES:** Se llevo a cabo la amplificación (amplificación de ADN in vitro de una secuencia de interés) de los restos alimenticios de los triatominos que fueron colectados en la aldea Paternito y el Guayabo, utilizando los diferentes cebadores para dicha investigación. (perro, ave, ratón, rata, cerdo, humano, *T. cruzi*.)
- **RESULTADOS FINALES:** Amplificación de la muestra de estudio.
- **LIMITACIONES Y DIFICULTADES:** Se presentaron problemas con el cebador de perro, por lo que se tuvieron que realizar repeticiones para determinar el problema; por último se llegó a un acuerdo de utilizar un nuevo cebador de perro.

Actividad No. 4: Corrida de ADN.

- **OBJETIVOS:** Colocar la mezcla de amplificación en la cámara de electroforesis, en la cual la mezcla pueda correr sobre una gel de agarosa y sumergida en una solución buffer, debido a atracciones electrostáticas.
- **RESULTADOS FINALES:** Manejo de la cámara de electroforesis apropiada, dando por ende corridas de ADN exitosas.
- **LIMITACIONES Y DIFICULTADES:** Como se mencionó en la actividad anterior, el problema se encontró en los resultados que brindaba la mezcla con el cebador de perro, por lo que se tuvieron que repetir.

Actividad No. 5: Lectura de bandas.

- **OBJETIVOS:** Realizar la lectura de las bandas por medio del transiluminador.

- RESULTADOS FINALES: Se logró distinguir la presencia o la ausencia de bandas, brindando así la información necesaria para comenzar a analizar los resultados para la investigación final de EDC.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: Aquí es en donde se observó el problema con el cebador de perro, ya que la lectura indicaba resultados inconsistentes.

Actividad No. 6: Sesión con invitadas extranjeras para resolver problemática de cebador de perro.

- OBJETIVOS: Resolver la problemática que se presentó al utilizar el cebador de perro para determinar su presencia en fuentes alimenticias de *T. dimidiata*.
- RESULTADOS FINALES: Se llegó a la conclusión de utilizar un nuevo cebador de perro que fuera más sensible para detectar la porción de ADN de interés.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: ninguna

Actividad No. 7: Ordenamiento y análisis de resultados obtenidos de fuentes Alimenticias.

- OBJETIVOS: Tabular, graficar y llevar a cabo comparaciones de los datos obtenidos de las pruebas PCR de fuentes alimenticias.
- RESULTADOS PARCIALES: Se obtuvieron los resultados de 236 especímenes de triatominos, los cuales fueron tabulados y graficados utilizando el programa de Excel.
- LIMITACIONES Y DIFICULTADES: ninguna

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- ✓ Alquijay, B & Armas, G. (2013) Programa analítico para la realización de la práctica de EDC para los estudiantes de la carrera de Biología. Guatemala (Ciudad); Universidad de San Carlos de Guatemala. Pp. 3

ANEXOS SERVICIO PREESTABLECIDO



Ordenamiento colección de mamíferos y aves.



Ingreso información a base de datos MUSHNAT



Afiche de aves MUSHNAT.



Preparación de aves.



Laboratorio de marcha ligera con Charles Turton.



Mantenimiento de la colección de Hongos.

ANEXO UNIDAD LENAP



Anexo 1. Ingreso de especímenes a la colección.



Anexo 2. Actualización de la biblioteca.



Anexo 3. Elaboración de muestrarios..



Anexo 4. Alimentación de chinches.



Anexo 5. Gira de campo Poptun.



Anexo 6. Cuidado de ratones y ratas.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
PROGRAMA EXPERIENCIAS DOCENTES CON LA COMUNIDAD
SUBPROGRAMA EDC-BIOLOGIA

INFORME FINAL DE INVESTIGACION

Determinación de fuentes alimenticias en triatominos intradomesticos y su relación con la presencia de Trypanosoma cruzi en el municipio de Olopa, Chiquimula, Guatemala.

LABORATORIO DE ENTOMOLOGIA APLICADA Y PARASITOLOGIA. (LENAP)

PERIODO DE REALIZACION

ENERO 2013 – ENERO 2014

SALVADOR ATONIO CASTELLANOS MURGUIA
PROFESOR SUPERVISOR DE EDC: Licda. GABRIELA ARMAS
ASESOR INSTITUCIONAL: Licda. Infieri RAQUEL LIMA
Vo.Bo. ASESOR INSTITUCIONAL

INDICE

RESUMEN	18
INTRODUCCION	18
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
JUSTIFICACION.....	19
REFERENTE TEORICO	21
Enfermedad de Chagas.	211
Trypanosoma cruzi.....	211
Triatominos	222
Triatoma dimidiata.....	222
Triatoma nítida.....	233
Fuentes alimenticias y técnicas de PCR.....	233
OBJETIVOS	244
General.....	244
Específicos.....	244
METODOLOGIA.....	255
DISEÑO	255
Población.	255
Muestra.	255
Amplificación	255
Electroforesis	255
TECNICAS A USAR EN EL PROCESO DE INVESTIGACION	266
Recolección de datos	266
Análisis de datos	277
INSTRUMENTOS PARA REGISTRO Y MEDICION DE LAS OBSERVACIONES	277
RESULTADOS.....	277
DISCUSION DE RESULTADOS	28
CONCLUSIONES	300
RECOMENDACIONES	300
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	311
ANEXOS	314

RESUMEN

La enfermedad de Chagas es una infección causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, siendo sus principales vectores para esta enfermedad en Centroamérica *Triatoma dimidiata* y *Triatoma nitida*. Estos vectores han resultado ser difíciles de eliminar dentro de las viviendas debido a que también se logran encontrar poblaciones silvestres que vuelven a colonizar las viviendas después de aplicar insecticidas, por lo que el control vectorial se ha convertido en la manera más eficaz para controlar la Enfermedad de Chagas en las comunidades. El objetivo del presente trabajo fue determinar las fuentes de alimento de los triatominos y la existencia de una relación con el parásito *T. cruzi* en la aldea Olopa, Chiquimula. Los resultados indicaron que la fuente de alimento más frecuente fue perro, también se determinó que aunque perro haya sido la fuente de alimento más común para los triatominos colectados, el porcentaje de triatominos con presencia del parásito *T. cruzi* era mayor cuando se evaluó humano como fuente alimenticia, lo que podría inferirse como un reservorio intradomestico del parásito.

INTRODUCCION

La enfermedad de Chagas es una infección causada por la presencia del parásito *Trypanosoma cruzi*. Esta es transmitida por insectos de la subfamilia Triatominae. Los principales vectores actualmente de la enfermedad de Chagas son *Triatoma dimidiata* y *Triatoma nitida* en Centroamérica, los cuales son los más comunes de encontrar dentro de las viviendas. Debido a que actualmente no se conoce ninguna cura y los tratamientos médicos son limitados, el control del vector se ha convertido en la manera más viable de poder controlar la enfermedad de Chagas. (Bustamante, et al., 2009)

Uno de los métodos utilizados para el control de los vectores de la enfermedad de Chagas es el PCR el cual nos permite conocer las fuentes alimenticias de *T. dimidiata* y *T. nitida*, así mismo permite determinar la presencia de *T. cruzi*. Ésta técnica ha sido desarrollada por Zeledón desde 1983, y actualmente existen estudios como el de Pellecer (2013) que aplican la determinación de fuentes alimenticias utilizando PCR para evaluar el éxito de la mejora de vivienda como método de control del vector. Sin embargo aún no se ha determinado la relación entre la fuente alimenticia detectada por PCR y la presencia de *T. cruzi*. Es por ello que este estudio tuvo como objetivo determinar las fuentes alimenticias en triatominos del municipio de Olopa Chiquimula y determinar su relación con la presencia de *T. cruzi*.

En el presente trabajo se analizaron los residuos alimenticios de los triatominos capturados en las aldeas Paternito y El Guayabo y utilizando técnicas de PCR con 6

cebadores de vertebrados comunes de encontrar en viviendas, perro, ave, ratón, rata, cerdo y humano, y el cebador específico para detectar la presencia de *T. cruzi* se lograron determinar las frecuencias tanto de fuentes alimenticias como la presencia y frecuencia del parásito *T. cruzi* en cada una de las fuentes alimenticias sujetas a estudio. Se observó en el estudio que la principal fuente de alimento detectada en los triatominos colectados en Olopa, Chiquimula fue perro, pero a pesar de presentar mayor frecuencia como fuente no presentó el porcentaje más alto relacionado con la presencia del parásito *T. cruzi*, la relación más alta se logró observar entre la fuente alimenticia humano y el parásito a pesar de haber sido la fuente menos frecuente de detectar.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Chiquimula es uno de los departamentos clasificados como alto en riesgo a la enfermedad de Chagas debido a la prevalencia del vector (*T. dimidiata* y *T. nítida*). (Orozco, 2009) Se encuentran con gran frecuencia en las aldeas, debido a que muchas de las viviendas están construidas con adobe o bajareque, lo que propicia a que las paredes se agrieten y formen hábitats ideales para la sobrevivencia de los triatominos. Según Pellecer (2011) en su estudio realizado con triatominos del departamento de Jutiapa, determinó las fuentes alimenticias y la presencia del parásito *Trypanosoma cruzi* con el fin de observar patrones en cuanto a la alimentación de la chinche luego de cierto tiempo en donde se habían realizado intervenciones humanas tales como insecticidas, mejoramiento de paredes, reemplazo de gallineros, educación de la enfermedad, etc. (Pellecer, 2011)

Partiendo de lo anterior, con el presente estudio se llevó a cabo la determinación de fuentes alimenticias y su frecuencia en triatominos del departamento de Chiquimula y se evaluó la existencia de una relación entre la presencia de *T. cruzi* y la fuente alimenticia. Una vez conociendo las fuentes de alimento y la presencia de *T. cruzi*, se contribuyó en generar conocimiento para optimizar el control de los vectores principales transmisores de la enfermedad de Chagas en el municipio de Olopa.

JUSTIFICACION

Se estima que en Centroamérica hay entre 5 y 6 millones de personas infectadas con la enfermedad de Chagas, la cual es una enfermedad que ataca tanto el tracto gastrointestinal y el corazón, lo que en muchos casos ocasiona la muerte. (OMS, 2002)

Las iniciativas hacia el control vectorial de la enfermedad de Chagas, comenzó inicialmente con el apoyo de cooperaciones japonesas. Estas iniciativas se concentraban en la eliminación de los vectores más comunes de dicha enfermedad por medio de fumigaciones intensas, entre los vectores más comunes estaban *Rhodnius prolixus* y *Triatoma dimidiata* responsables de más del 80% de la propagación de la enfermedad. (Reyes, Ruiz, Escobedo & Barrera, 2011,)

Con dichos esfuerzos se logró erradicar completamente al vector *Rhodnius prolixus*, debido a que el nicho de estos es solamente doméstico y además fue posible la reducción poblacional del vector *Triatoma dimidiata*, al eliminar gran cantidad de insectos domiciliarios (Hashimoto, et al, 2012). Posteriormente en conjunto con las fumigaciones, estos proyectos se concentraron en el mejoramiento de viviendas y en la revisión y determinación del *T. cruzi* en muestras de sangre para transfusiones (Reyes, Ruiz, Escobedo & Barrera, 2011).

En Guatemala los insectos de la subfamilia Triatominae, especialmente del género *Triatoma* son los principales vectores de esta enfermedad. La infección ocurre al momento en el que el triatomo hematófago deposita sus heces, en el hospedero del cual se está alimentando. El parásito *T. cruzi* que se encuentra en las heces entra por medio de heridas o por membranas mucosas al torrente sanguíneo del hospedero. (OMS, 2002)

Triatoma dimidiata y *Triatoma nitida* son vectores que han resultado ser difíciles de controlar dentro de las viviendas, esto debido a que también se logran encontrar poblaciones silvestres que vuelven a colonizar las viviendas luego de ser tratadas con insecticidas. Es por ello que con dicha investigación se espera ampliar el conocimiento acerca del comportamiento alimenticio de los triatominos, ya que con esta información posteriormente se podrían hacer proyectos de reubicación de fuentes alimenticias fuera de las viviendas y junto a ello, una mejora de vivienda; de modo que al no haber fuentes de alimento dentro de la casa y las paredes mejoradas, la chinche ya no tendría donde vivir ni de qué alimentarse, por lo tanto se esperaría disminuir la infectividad en el humano. Así mismo al determinar la relación fuente y presencia de parásito, podríamos estimar que fuente alimenticia es la más frecuente a infectarse.

REFERENTE TEORICO

Enfermedad de Chagas.

Esta es una enfermedad causada por un protozoo flagelado llamado *Trypanosoma cruzi*, esta es una enfermedad endémica de América y es por ello que en algunas áreas también se le es denominada como Tripanosomiasis americana. (OPS/OMS-MPS, 2010, p. 13) Esta enfermedad es transmitida al humano por medio de las heces de un vector artrópodo hematófago.

La enfermedad de Chagas se puede categorizar en dos fases; una fase aguda también conocida como la fase inicial en donde predomina el parásito que circula por el corriente sanguíneo en grandes cantidades. En esta fase la persona infectada presenta fiebres elevadas que pueden persistir hasta 12 semanas, es en este punto en donde se debe llevar el tratamiento para eliminar el parásito. (OPS/OMS-MPS, 2010, p. 13-15).

La fase crónica da inicio posteriormente a la fase aguda y se debe a la persistencia de la infección por el *T. cruzi*. En esta fase la enfermedad ataca al corazón o el tracto gastrointestinal y debido a ello es una enfermedad mortal.

Se estima que en Centroamérica haya aproximadamente 5 millones de personas infectadas y otras 25 millones corren el riesgo de contraer la enfermedad.

Para Guatemala la estimación de personas en riesgo de adquirir dicha enfermedad es de aproximadamente 4 millones de personas, 730,000 personas infectadas y aproximadamente 30,000 nuevos casos de infección anualmente. (OMS, 2002)

Trypanosoma cruzi

El parásito es un protozoo pequeño de aproximadamente 20 μ de largo, presenta 3 formas: los amastigotes y tripomastigotes que se pueden encontrar en el humano, el último tripomastigote metacíclico es su estadio infectivo de la enfermedad. En el vector se puede encontrar como Epimastigote y como tripomastigote en el intestino terminal al momento de ser expulsado por las heces del vector. (Acha, 2003)

La forma que presenta como tripomastigote es como una "C". Presenta un kinetoplasto de gran tamaño cerca de la base del cuerpo. La membrana ondulante le permite al parásito junto con el flagelo moverse por el torrente sanguíneo.

El ciclo de vida del parásito comienza en una fase de epimastigote en el vector que es la fase replicativa y móvil en el intestino del transmisor; al momento que el vector hematófago se alimenta y defeca en la herida del hospedero, el tripomastigote entra por la lesión, esta puede invadir las células y es donde se transforma para dar lugar al Amastigote, que es la fase replicativa del parásito. Posteriormente estas formas

intercelulares darán lugar al tripomastigote que es la fase móvil extracelular del parásito. (Olsen, 1974)

Triatominos

Los Triatominos son una subfamilia de Hemípteros (Chinches verdaderas) que pertenecen a la familia Reduviidae caracterizados por poseer un hábito hematófago obligado (Schofield, 1994 citado en Menes, 2004). Los insectos del Orden Hemiptera se caracterizan por poseer alas delanteras denominadas Hemielitros, caracterizadas por poseer una la porción basal engrosada y coriácea, y una apical membranosa. Poseen además alas traseras membranosas. Poseen un aparato bucal especializando en aspiración de sangre, las partes bucales son del tipo picador chupador contando con una probóscide segmentada. Además estos insectos presentan ojos compuestos bien desarrollados. En el desarrollo de estos insectos se observa una metamorfosis simple, y generalmente presentan cinco estadio ninfales (Borrer et. al, 1989 citado en Menes, 2004).

La peligrosidad en cuanto a salud de los Triatominos reside en su capacidad de transmitir el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi* (Schofield, 1994 citado en Menes, 2004). Estudios previos sobre estos organismos han demostrado la existencia de 128 especies, las cuales se agrupan en 17 géneros y según la bibliografía 5 tribus (Schofield et. al, 1999 citado en Menes, 2004). Estas se distribuyen en regiones tropicales y subtropicales, y más del 50% de estas especies ha sido natural o experimentalmente infectadas con *T. cruzi* por lo que se les considera patógenos potenciales de la enfermedad de Chagas. Sin embargo, se puede determinar el nivel de patogenicidad según tres factores (mientras mayormente se cumplan el organismo será más patógeno) los cuales son: El grado de susceptibilidad a la infección con *T. cruzi*, el intervalo de tiempo entre la alimentación y defecación de la chinche al ser esta la forma de transmisión de la enfermedad y el grado de contacto con humanos. En Guatemala se observa principalmente la transmisión asociada a la especie *Triatoma dimidiata* la cual presenta un nivel de patogenicidad bastante alto (Schofield, 2000; Lent & Wygodzinsky, 1979 citado por Menes, 2004).

Triatoma dimidiata

Triatoma dimidiata es una especie de hemíptero hematófago de la familia Reduviidae, reportado desde México hasta el norte de Suramérica como una de las principales que actúan como vectores de *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas (Lent y Wygodzinsky 1979; Cruz-Reyes y Pickering-López 2006 citados en Reyes, Ruiz, Escobedo & Barrera, 2011). *T. dimidiata* se distribuye ampliamente en Belice, Colombia, Costa Rica, Ecuador, Guatemala, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Perú, El Salvador y Venezuela (Guhl 2009 citado en Reyes, Ruiz, Escobedo & Barrera, 2011).

T. dimidiata mide aproximadamente 1.6 a 2.5 cm de largo su coloración varía de café oscuro a negro y regularmente se encuentran marcados con un color rojo o naranja. La cabeza es alargada, un tanto cónica, el protórax se hace angosto hacia el frente, las alas se les denominan hemielitros y estas se cruzan en forma plana sobre el dorso, estas tienen de dos a tres celdas en la membrana. *T. dimidiata* presenta una preferencia por temperaturas entre en el rango 26° C a los 27.5° C. (White, 1970)

En los ambientes domésticos y peridomésticos habitan principalmente en agujeros o grietas en las paredes de las casas, en su mayoría casas elaboradas de material orgánico, también suelen observarse en los muebles, en sitios de almacenamiento de madera, techos de palma, detrás de cuadros y rocas, en madrigueras y es bastante común encontrarlos asociados a sitios donde existe crianza de animales domésticos como perros y gallinas, madrigueras de ratas, ratones, etc. debido a que son potencialmente fuentes alimenticias. (Carcavallo et al. 1999 citados en Reyes, Ruiz, Escobedo & Barrera, 2011)

T. dimidiata es una especie generalista en sus hábitos alimenticios es decir que utiliza un amplio rango de hospederos que vienen siendo desde humanos y otros mamíferos como perro, gatos, ratas y ratones, hasta aves principalmente asociadas a comunidades humanas (Zeledón et al. 1973; Quintal y Polanco 1977; Zeledón 1981; Christensen et al. 1988; Calderón-Arguedas et al. 2001 citados en Reyes, Ruiz, Escobedo & Barrera, 2011)

Triatoma nítida

T. nítida es un hemíptero de la familia Reduviidae que al igual que *T. dimidiata* es vector de la enfermedad de Chagas; está distribuida a lo largo de México, Guatemala, Costa Rica y Honduras. (Monroy. Et al, 2003)

Este es el segundo vector de mayor importancia en Guatemala, es una especie de climas templados y altitudes aproximadas de 960-150msnm. Según estudios de 1994 a 1998 fue encontrada en 6 departamentos de Guatemala y utilizando el método de colecta hombre-hora se logró encontrar dentro de 3,726 viviendas; en la actualidad ha incrementado a 9 departamentos en donde ahora se logra encontrar. (Monroy. Et al, 2003)

T. nítida presenta hábitos alimenticios parecidos a los de *T. dimidiata* y esto se debe a que comparten el mismo nicho ecológico, aunque es más común encontrar este triatomino en construcciones abandonadas se han reportado casos de ellos dentro de viviendas habitadas. (Monroy. Et. Al, 2003)

Fuentes alimenticias y técnicas de PCR

Técnicas tales como las de precipitina, ELISA, PCR, etc. son técnicas serológicas y moleculares que han sido utilizadas para la identificación de fuentes alimenticias de varios hematófagos.

La técnica de PCR que representa la reacción en cadena de la polimerasa, es muy útil ya que permite realizar análisis de especímenes ya sea que estos estén muertos, secos o hayan sido preservados por largos periodos. (Innis, 1990)

La técnica de PCR se basa en sintetizar fragmentos de ADN utilizando una polimerasa capaz de trabajar a temperaturas altas, dicha polimerasa conocida como taq polimerasa. Al momento de realizar una reacción de PCR lo que se está recreando es la síntesis de ADN en una célula; es decir que se mezcla la polimerasa, el ADN del organismo en el cual se encontrara el segmento de interés, los oligonucleótidos también conocidos como cebadores que son necesarios para que se lleve a cabo la transcripción, dinucleotidos, y otras condiciones como pH y salinidad necesarias para que se lleven a cabo las reacciones. (Eguiarte, 2007)

Ésta técnica ha sido utilizada desde 1983 por Zeledón quien da algunos detalles acerca de cuáles son los factores fisiológicos que están relacionados con la alimentación en vista de la importancia de la misma para la localización de la víctima y por ende la relación que presenta con la enfermedad de Chagas, y recientemente por Pellecer (2013), quien determinó las fuentes alimenticias y la presencia del parásito *T. cruzi* en *Triatoma dimidiata* que fueron colectadas en La Brea y El Tule después de que se llevaron modificaciones en las áreas domiciliarias y peridomiciliares de estas aldeas.

OBJETIVOS

General

- Determinación de las fuentes alimenticias de los triatominos y su relación con la detección de *T. cruzi*, en el municipio de Olopa, Chiquimula, Guatemala.

Específicos

- Determinar la frecuencia de aves, perro, cerdo, gato, rata, ratón, humano como fuente alimenticia para triatominos en Olopa Chiquimula.
- Determinar la presencia de *T. cruzi* en triatominos, en Olopa Chiquimula.
- Determinar si existe una relación entre la presencia de *T. cruzi* y la fuente alimenticia.
- Generar conocimiento para la propuesta de estrategias de control de los vectores a nivel domiciliar en el municipio Olopa, Chiquimula.

METODOLOGIA

Se utilizaron especímenes de triatomos ya colectados provenientes de las aldeas Paternito y El Guayabo por medio de colecta manual. Los especímenes fueron ingresados a la base de datos y preservados en alcohol-glicerina.

DISEÑO

Población.

Triatomos (*Triatoma dimidiata* y *Triatoma nítida*) en la aldea Paternito y el Guayabo, municipio de Olopa, Chiquimula, Guatemala.

Muestra.

Consiste en 236 triatomos colectados manualmente en dos aldeas del departamento de Chiquimula y a los cuales le fueron realizadas extracción de ADN y pruebas PCR. 77 son de la aldea Paternito y 159 de la aldea El Guayabo.

Amplificación

Posteriormente a la extracción de ADN se llevó a cabo la amplificación de las muestras con los cebadores de cada fuente alimenticia bajo estudio (aves, perro, cerdo, rata, ratón, humano). Para ello se le colocaba a las muestras de ADN una solución que consistía en la mezcla de H₂O nivel molecular, cebador (según fuente alimenticia) y por ultimo Taq polimerasa que permitirá la amplificación de nuestra secuencia de interés. Después se colocaron las muestras finales en el termociclador el cual permitía las condiciones celulares específicas en el cual la secuencia de interés se pega en nuestro cebador si hay presencia de dicha secuencia.

Electroforesis

Para la elaboración del gel en donde se colocaron y visualizaron las muestras de ADN se colocó 150 ml de TBE y 3gr de Agarosa, se dejó calentar hasta que la mezcla se tornaba transparente, finalmente se le coloco Bromuro de Etidio y se dejó cuajar la gel.

El producto de la PCR se visualizó por medio de electroforesis para poder indicar la presencia y/o ausencia de las fuentes alimenticias bajo estudio y la presencia del parasito *T. cruzi*. (Eguiarte, et al., 2007)

Los parámetros que fueron utilizados en el experimento para cada cebador fueron los siguientes.

	Especie	Secuencia	Inicialización	Desnaturalización Unión Extensión	Extensión final
Ave	----	5'ATAGAATGGCCTCCCTTCAAAG'3 5'AAGTTTTTCACACAGAGGGTGGT'3	2min a 94°C	30 ciclos 30s a 95°C 30s a 55°C 45s a 72°C	5min a 72°C
Cerdo	<i>Sus scrofa</i>	5'GACTAGGAACCATGAGGTTGCG'3 5'AGCCTACACCACAGCCACAG'3	2min A 94°C	30 ciclos 30s a 95°C 30s a 61°C 45s a 72°C	5min a 72°C
Ratón	<i>Mus musculus</i>	5'AGATGGCTCAGTGGGTAAAGG'3 5'GTGGAGGTCAGAGGACAAACTT'3	2min a 94°C 12min a 95°C	30 ciclos 30s a 95°C 30s a 50°C 45s a 72°C	5min a 72°C
Rata	<i>Rattus norvegicus</i>	5'CAAGACGGATGATCAAATGTG'3 5'ATTGGGTGGCTGTATATGTATGG'3	2min a 94°C 12min a 95°C	30 ciclos 30s a 95°C 30s a 50°C 45s a 72°C	5min a 72°C
Perro	<i>Canis lupus familiaris</i>	5'AGGGCGCGATCCTGGAGAC'3 5'AGACACAGGCAGAGGGAGAA'3	2min a 94°C	30 ciclos 30s a 95°C 30s a 60°C 20s a 72°C	----
Humano	<i>Homo sapiens</i>	5'GAGATCGAGACCACGGTGAAA'3 5'TITGAGACGGAGTCTCGTT'3	2min a 94°C 12min a 95°C	40 ciclos 15s a 95°C 1min a 61°C 1min a 61°C	5min a 72°C
<i>T. cruzi</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>	5'CGAGCTCTTGCCACACGGGTGCT'3 5'CCTCCAAGCAGCGGATAGTTCAGG'3	2min a 94°C	30 ciclos 20s a 94°C 10s a 55°C 30s a 72°C	7min a 72°C

(Walker, et al., 2003a; Walker, et al., 2003b; Walker, et al., 2004; Moser, et al., 1989; Pizarro y Stevens, 2008)

TECNICAS A USAR EN EL PROCESO DE INVESTIGACION

Recolección de datos

Los datos se obtuvieron al observar cada corrida de gel por electroforesis, se anotaron los resultados como presencia/ausencia de cada fuente alimenticia bajo estudio (perro, ave, ratón, rata, cerdo y humano), al igual que la presencia/ausencia de *T. cruzi* para cada una de las fuentes alimenticias, que se tomaron como frecuencia.

Análisis de datos

Se midió la frecuencia de fuentes alimenticias de los triatominos colectados en el municipio de Olopa por medio de técnicas de PCR, de igual forma también se midió la presencia de *T.cruzi* en cada una de estas fuentes alimenticias.

Se determinó el porcentaje de triatominos a los cuales se les detecto por lo menos una fuente alimenticia (perro, ave, ratón, rata, cerdo y humano) y triatominos a las cuales no se les identifico fuente de alimento, del mismo se realizó una prueba de Ji cuadrado para observar el nivel de significancia entre la frecuencia en la que las chinches se alimentan.

Por medio de una comparación porcentual se determinó que fuente alimenticia presentaba mayor relación con la presencia del parasito *T. cruzi*.

INSTRUMENTOS PARA REGISTRO Y MEDICION DE LAS OBSERVACIONES

- Equipo PCR
- Termociclador
- Equipo de Electroforesis
- Hojas de apuntes
- Cámara fotográfica

RESULTADOS

En total se colectaron 236 triatominos en el municipio de Olopa, los cuales 159 fueron colectadas en la aldea El Guayabo y 77 colectadas en Paternito, se determinó la detección de al menos una de las fuentes alimenticias bajo estudio (ave, cerdo, ratón, rata, perro, humano) en el 35% de triatominos colectados en Olopa. Al realizar un prueba de Ji cuadrado partiendo de los resultados de un estudio bajo codiciones controladas (Jiron y Zeledon 1982) se obtuvo que le valor de p no presentaba una diferencia significativa entre los resultados obtenidos en Olopa. (Cuadro 1)

Cuadro 1. Porcentaje de detección y no detección de fuentes alimenticias de los triatominos colectados en el municipio de Olopa, Chiquimula. N= 236

Numero de fuentes identificadas	% de chinches	Ji cuadrado	Valor de P	Grados de libertad
Al menos 1	35	0,673	0,4122	1
Ninguna	65			

En el cuadro 2 se muestra el porcentaje de cada fuente de alimento de los 82 triatominos a los cuales les detectó al menos una fuente alimenticia; ratón y cerdo presentaron un 0% ya que no se encontró presencia de estos como fuentes alimenticia en ninguno de los triatominos colectados en Olopa, Chiquimula. Se observa que la mayor fuente alimenticia detectada para los triatominos es perro, y el menos frecuente como alimento para los triatominos obviando cerdo y ratón sería el humano.

También se observa que de los 82 triatominos a los cuales se les detecto al menos una fuente alimenticia un 12,19% también se le detectó la presencia del parasito *T. cruzi*.

Cuadro 2. Porcentaje de fuentes alimenticias detectadas en los triatominos colectados en el municipio de Olopa N= 82; y la detección de *T. cruzi* en el municipio.

Municipio	Ave (%)	Cerdo (%)	Ratón (%)	Rata (%)	Perro (%)	Humano (%)	<i>T. cruzi</i> (%)
Olopa	26,83	0,00	0,00	26,83	34,15	12,20	12,19

El Cuadro 3 presenta los porcentajes de positividad de *T. cruzi* según la fuente alimenticia detectada en los triatominos colectados en Olopa, Chiquimula. Esto podría indicarnos que fuente es mas propensa a actuar como un reservorio del parásito en condiciones intradomesticas. En el podemos observar que a pesar de que perro fue la fuente más frecuente como fuente alimenticia, el porcentaje del parásito *T. cruzi* era mayor en humano.

Cuadro 3. Presencia de *T. cruzi* por fuente alimenticia en los triatominos colectados en el municipio de Olopa, Chiquimula.

Presencia <i>T. cruzi</i>	Ave		Cerdo		Raton		Rata		Perro		Humano	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Positivo	2	9,09	0	0	0	0	2	9,09	4	14,28	2	20
Negativo	20	90,91	0	0	0	0	20	90,91	24	85,72	8	80
Total	22	100	0	0	0	0	22	100	28	100	10	100

DISCUSION DE RESULTADOS

Se realizó una prueba de Ji cuadrado (Cuadro 1) para los datos obtenido en Olopa y comparando el mismo con los datos de Jiron y Zeledon (1982) quienes realizaron estudios

en condiciones experimentales, se observa que para el municipio no hay una diferencia significativa entre lo obtenido y lo esperado. Por lo que si se entiende que los resultados obtenidos y la técnica son correctos, indicaría que a pesar de que hay hospederos disponibles, la frecuencia en la que los triatominos se están alimentando es baja, esto pudo deberse a que la fuente de alimentación no fue evaluada dentro de la investigación (ave, perro, cerdo, gato, rata, ratón, humano) o debido a un estado de ayuno por parte de las chinches a las cuales no se les detectó nada.

En el cuadro 2 se muestran los resultados obtenidos en la investigación, estos demostraron que la principal fuente de alimento para los triatominos colectados en Olopa Chiquimula, fue perro, esto coincidió con los resultados obtenidos por Pellecer (2013) los cuales demostraban que perro era la principal fuente alimenticia detectada, y esto se podría explicar a la disponibilidad de perro como fuente alimenticia, ya que muchas de las viviendas en estas aldeas frecuentan tener de uno a dos perros por vivienda. Y podría ser considerado al igual un medio de transporte de los triatominos de una peridomiciliar a intradomiciliar e incluso transporte a otras viviendas.

Según los datos recopilados en la encuesta basal del proyecto de Tres países Guatemala (2011) antes de la mejora de vivienda, indicaba que el porcentaje de aves por casa en las aldeas bajo estudio del municipio de Olopa era mayor al porcentaje de perros, por lo que en base a ello debería de verse aves como una potencial fuente alimenticia debido a la disponibilidad para los triatominos, lo cual no se observó; estudios de Gurtler (2009) quien trabajo con *Triatoma infestans* observó que al incrementar la disponibilidad y accesibilidad de perro, incrementaba la probabilidad de que los triatominos ingirieran sangre de ellos, por lo que se podría inferir una preferencia en cuanto a la fuente de alimento por parte de los triatominos si existe la disponibilidad de la misma.

En el municipio se observó que la presencia de humano como fuente alimenticia fue la más baja (sin tomar en cuenta cerdo y ratón que no hubo ninguna detección). Según la información recopilada en la encuesta basal del proyecto de Tres países Guatemala (2011), de 647 construcciones que se encuestaron en las aldeas bajo estudio de Olopa Chiquimula 65 presentaron triatominos intradomesticos, de los cuales únicamente al 12% se les detecto humano como fuente alimenticia. Este porcentaje de humano como fuente alimenticia resulto ser bajo a comparación de lo obtenido en el estudio por Calderón y colaboradores (2001) quienes estudiaron la preferencia alimenticia de *Triatoma dimidiata* en zonas de Costa Rica y obtuvieron un porcentaje de 67% tomando en cuenta que el comportamiento que se vio en su estudio no es meramente una predilección, sino más bien la disponibilidad de esa fuente sobre las otras (perro, rata, gallina, ratón, *didelphis*).

Se observa que de los 86 triatominos a los cuales se les detectó una de las fuentes alimenticias, el 12,19% se les encontró presencia de *T. cruzi*. En el cuadro 3 se observan los porcentajes de positividad por *T. cruzi* encontradas en los triatominos de Olopa, Chiquimula según la fuente de alimento que se detectó. Los porcentajes más altos en cuanto a presencia del parasito lo encontramos en humano, aunque este haya sido la fuente menos detectada en los triatominos, lo que podría indicar un reservorio de parasito dentro de las viviendas. Estos resultados obtenidos difieren a los resultados obtenidos en el estudio realizado por Calderon y colaboradores (2001) quienes identificaron como más probables reservorios a los roedores que habitaban dentro de las viviendas.

Es importante el manejo y control del vector al igual que el conocimiento del comportamiento del mismo, ya que al conocer dichas variables que inciden sobre estos se puede tomar un plan de acción que ayude en la erradicación de los triatominos dentro de las viviendas y por ende reduciendo la incidencia de la enfermedad de Chagas en las comunidades como la es la aldea de Olopa, Chiquimula.

CONCLUSIONES

- La fuente principal detectada en los triatominos colectados en Olopa, Chiquimula fue perro, coincidiendo con lo obtenido por otros estudios (Gurtler, 2009 y Pellecer, 2013).
- Los resultados indican que a pesar de que hay hospederos disponibles en la aldea de Olopa, la frecuencia de alimentación de los triatominos fue baja, esto pudo deberse ya sea a que la fuente alimenticia no fue evaluada dentro del estudio o por condiciones de ayuno por parte del triatomino al evaluar residuos alimenticios.
- El porcentaje de positividad del parásito *T. cruzi* fue mayor en los triatominos detectados con humano como fuente alimenticia, aunque este hay indicado ser la fuente menos frecuente.

RECOMENDACIONES

- Llevar a cabo una comparacion con otras aldeas dentro del municipio de Chiquimula.

- Tomar en cuenta otros criterios tales como fuentes alimenticias silvestres (pisotes, armadillos, zarigüeyas) dependiendo de los animales disponibles en tales áreas.
- Tomar en cuenta los resultados obtenidos, como es el caso de perro como mayor fuente alimenticia por los triatominos, para tomar medidas tales un mejor cuidado de las mascotas para evitar que estos lleven triatominos hacia las viviendas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Acha, P. (2003) Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3ª edición. Washington D.C. USA. Pag. 27
- Bustamante, D. Monroy, C., Pineda, S., Rodas, et al. (2009) Risk factors for intradomestic infestations by the Chagas Disease vector *Triatoma dimidiata* in Jutiapa, Guatemala. Cad. Saude Publica, Rio de Janeiro, 25 (1). Pág 83-92
- Calderón-Arguedas, O., Chinchilla, M., García, F., Vargas, M. (2001) Preferencias alimentarias de *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) procedente de la meseta central de Costa Rica a finales del siglo XX. Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET). Facultad de Microbiología. Universidad de Costa Rica. Parasitologia al dia, Scielo.
- Eguiarte, L., Souza, V., et al. (2007) Ecologia Molecular 1ª edición, Mexico D.F. Pág 532
- Gurtler, R., Ceballos, L., et al. (2009) Strong Host-Feeding Preferences of the vector *Triatoma infestans* modified by vector density: Implications for the epidemiology of Chagas disease.
- Hashimoto, et al. (2012). Vector control intervention towards interruption of transmission of Chagas disease by *Rhodnius prolixus*, main vector in Guatemala.
- Innis, M., Gelfand, D., et al. (1990) PCR Protocols: A guide to Methods and Applications. San Diego, California. Pág 13-15
- Jirón, LF. y Zeledón, R. (1982). Preferencias de tres especies de Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) en condiciones experimentales. Rev. Biol. Trop. 30(2), Pág. 151-159.
- Manual de Extracción de ADN, E.Z.N.A™ Tissue DNA Kit. A. Protocolo para la extracción total de ADN de tejido animal. B. Protocolo de extracción total de ADN de sangre animal.

- Menes M. (2004). Diferencias métricas entre poblaciones de *Triatoma dimidiata* Latreille (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) de México, Centro América y Colombia: Efecto de la procedencia geográfica y el ecotopo. (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Monroy, C. et al. (2003). Geographic distribution and morphometric differentiation of *Triatoma nitida* usinger 1939 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Guatemala. Guatemala.
- Moser, D.R., Kirchoff, L.V., Donelson, J.E. (1989) Detection of *Trypanosoma cruzi* by DNA amplification using the polymerase chain reaction. J Clin Microbiol, 27. Págs. 1477-1482
- Olsen, O. (1974) Animal parasites: Their life cycles and ecology. Baltimore, Maryland, USA. Pág. 32
- OMS, Comité de Expertos de la OMS sobre la enfermedad de Chagas, 2002. Segundo informe del comité de expertos de la OMS: Control de la enfermedad de Chagas. Ginebra: Organización mundial de la salud. OMS, series de informes técnicos. Pág. 905, 124
- Orozco, M. Situación de la enfermedad de Chagas en Guatemala, enero-junio 2009; recuperado de: <http://epidemiologia.mspas.gob.gt/vigepi/chagas%20enero-junio-09.pdf>
- Pellecer, M. (2011) Identificación de fuentes alimenticias y de la presencia de *T. cruzi* utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) del ADN en la ingesta de sangre de *Triatoma dimidiata* de colectas de las aldeas La Brea y El Tule del municipio de Quesada, Jutiapa, Guatemala, antes y después de modificaciones en ecotopos domiciliarios y peridomiciliarios. Tesis, USAC Guatemala. Pág. 67-69
- Pellecer M, Dorn P, Bustamante D, Rodas A, Monroy M, (2013). Vector blood meals are an early indicator of the effectiveness of the Ecohealth approach in halting Chagas transmission in Guatemala. Am J Trop Med Hyg 88: 638–644.
- Pizarro, J.C., Stevens, L. (2008) A New Method for Forensic DNA Analysis of the Blood Meal in Chagas Disease Vectors Demonstrated Using *Triatoma infestans* from Chuquisaca, Bolivia. PloS ONE, 3. Pág 10.
- Reyes, E., Ruiz, H.A., Escobedo, J. & Barrera, M.A. (2011). Biología y ecología de *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811), algunos aspectos de estudio. Guadalajara: Dugesiana. p.11
- Walker, J.A., Hughes, D.A., Anders, B.A., Shewale, J., Sinha, S.K., Batzer, M.A. (2003a). Quantitative intrashort interspersed element PCR for species-specific DNA identification. Anal Biochem, 316. Págs. 259-269.

- Walker, J.A., Kilroy, G.E., Xing, J., Shewale, J, Sinha, S.K., Batzer, M.A. (2003b). Human DNA quantitative using Alu element based polymerase chain reaction. *Anal Biochem*, 315. Págs. 122-128.
- Walker, J.A., Hughes, D.A., Hedges, D.J., Anders, B.A., Laborde, M.E., Shewale, J., Sinha, S.K., Batzer, M.A. (2004) Quantitative PCR for DNA identification based on genome-specific interspersed repetitive elements. *Genomics*, 83. Págs. 518-527
- White, R.E. (1970) The Peterson Field Guide series. A field guide to the insects of America and North of Mexico. 5a ed United States: 404
- Zeledon, R. (1983) Vectores de la enfermedad de Chagas y sus características ecofisiológicas. Pág. 384-387
- OPS/OMS-MPS. (2010). Guía de Atención Clínica de la enfermedad de Chagas 2010. Ministerio de la protección social organización panamericana de la salud. Recuperado de: <http://www.minsalud.gov.co/Documentos%20y%20Publicaciones/Guia%20de%20atencion%20clinica%20de%20chagas%202010.pdf>

ANEXOS

Determinación de fuentes alimenticias en triatominos intradomesticos y su relación con la presencia de *Trypanosoma cruzi* en el municipio de Olopa, Chiquimula, Guatemala.

Salvador Castellanos, Raquel Lima
Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología –LENAP–

Palabras clave: *Trypanosoma cruzi*, vector, triatominos, *Triatoma dimidiata*, Enfermedad de Chagas, fuente alimenticia

RESUMEN

La enfermedad de Chagas es una infección causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, siendo sus principales vectores para esta enfermedad en Centroamérica *Triatoma dimidiata* y *Triatoma nítida*. Estos vectores han resultado ser difíciles de eliminar dentro de las viviendas debido a que también se logran encontrar poblaciones silvestres que vuelven a colonizar las viviendas después de aplicar insecticidas, por lo que el control vectorial se ha convertido en la manera más eficaz para controlar la Enfermedad de Chagas en las comunidades. El objetivo del presente trabajo fue determinar las fuentes de alimento de los triatominos y la existencia de una relación con el parásito *T. cruzi* en la aldea Olopa, Chiquimula. Los resultados indicaron que la fuente de alimento más frecuente fue perro lo que coincide con lo obtenido por Pellecer (2013), también se determinó que aunque perro haya sido la fuente más común como fuente de alimento para los triatominos colectados en Olopa el porcentaje de triatominos con presencia del parásito *T. cruzi* era mayor cuando se evaluó humano como fuente alimenticia, lo que podría inferirse como un reservorio intradomestico del parásito.