

# ***Trypanosoma rangeli*: un protozoo infectivo y no patógeno para el humano que contribuye al entendimiento de la transmisión vectorial y la infección por *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas**

Gustavo Adolfo Vallejo\*, Yázmin Suárez, Jenny Lorena Olaya, Sneider Alexander Gutiérrez, Julio César Carranza

Laboratorio de Investigaciones en Parasitología Tropical (LIPT), Facultad de Ciencias, Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia

## **Resumen**

A diferencia de *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas, *Trypanosoma rangeli* es un parásito infectivo y no patógeno para el humano, pero sí para los vectores del género *Rhodnius*. Con base en polimorfismos del ADN del cinetoplasto (kADN), del gen minixón o líder de empalme (*Spliced Leader*), del espaciador interno transcrito (ITS) y de la subunidad pequeña del ribosoma (SSU rARN), se han descrito varios genotipos de *T. rangeli* (KP1+/A, B, KP1-/C, KP1-/D y E), los cuales son transmitidos selectivamente por dos líneas filogenéticas de *Rhodnius*, lo que indica la ocurrencia de procesos coevolutivos entre el parásito y los vectores. La línea Robustus (*Rhodnius prolixus*, *Rhodnius robustus* y *Rhodnius neglectus*) transmite exclusivamente el genotipo KP1+/A y la línea Pallescens (*Rhodnius pallescens*, *Rhodnius colombiensis* y *Rhodnius ecuadoriensis*) transmite el genotipo KP1-/C. Aunque el conocimiento de las bases moleculares de la interacción parásito-vector es todavía escaso, este trabajo presenta observaciones inéditas sobre la capacidad de los genotipos KP1+/A y KP1-/C para completar el ciclo de vida en algunas de las 19 especies de *Rhodnius* y la detección de factores tripanolíticos en *R. prolixus*, *R. robustus* y *R. neglectus* contra el genotipo KP1-/C y varios genotipos de *T. cruzi*. Los avances recientes en los estudios de transcripción genómica de *T. rangeli*, y su comparación con *T. cruzi* constituyen el punto de partida para entender cabalmente la transmisión vectorial selectiva de *T. rangeli* y *T. cruzi*, así como de la patogenia de *T. rangeli* para el vector y de la incapacidad de *T. rangeli* y la capacidad de *T. cruzi* para invadir células del mamífero.

**Palabras clave:** *Trypanosoma rangeli* KP1(+), *Trypanosoma rangeli* KP1(-), epidemiología molecular, genoma de *T. rangeli*, *Rhodnius* spp.

***Trypanosoma rangeli*: an infective but non-pathogenic protozoon for humans which contributes to the understanding of the vector-borne transmission and the pathogenesis of *Trypanosoma cruzi*, causative agent of Chagas' disease**

## **Abstract**

Unlike *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas' disease, *T. rangeli* is an infective, non-pathogenic parasite for humans, but pathogenic for vectors from the *Rhodnius* genus. Several *T. rangeli* genotypes (KP1+/A, B, KP1-/C, KP1-/D and E) have been described based on kinetoplast DNA (kDNA) polymorphisms, the spliced leader or minixon, the intergenic transcribed spacer (ITS) and the small ribosomal subunit (SSUrRNA). These are selectively transmitted by two *Rhodnius* phylogenetic lines, thereby indicating co-evolutionary processes between parasite and vector genotypes. The Robustus line (*Rhodnius prolixus*, *R. robustus* and *R. neglectus*) exclusively transmits the KP1+/A genotype and the Pallescens line (*R. pallescens*, *R. colombiensis* and *R. ecuadoriensis*) only transmits the KP1-/C genotype. Even though little knowledge is available regarding the molecular basis of parasite-vector interaction, the present work presents unpublished observations about KP1+/A and KP1-/C genotype ability to complete the life-cycle of some of the 19 *Rhodnius* species and the detection of trypanolytic factors in *R. prolixus*, *R. robustus* and *R. neglectus* against the KP1-/C genotype and some *T. cruzi* genotypes. Several advances regarding molecular, transcriptome and genomic studies dealing with *T. rangeli* are presented and compared to *T. cruzi*; these are the starting point for understanding the selective vectorial transmission of *T. rangeli* and *T. cruzi*; *T. rangeli* pathogenicity for the vector, as well as *T. rangeli* inability and *T. cruzi* ability to invade mammalian cells.

**Key words:** *Trypanosoma rangeli* KP1(+), *Trypanosoma rangeli* KP1(-), molecular epidemiology, *T. rangeli* genome, *Rhodnius* spp.

## Introducción

*Trypanosoma rangeli* fue reportado por primera vez en Colombia en *Rhodnius prolixus* del municipio de Prado, Tolima (Uribe, 1929). Los estudios sobre el ciclo del parásito en el vector, su persistencia e inocuidad en los humanos se deben a Groot, *et al.* (1950, 1951) y a Groot (1952, 1954). Algunos de los estudios posteriores sobre la biología y la epidemiología de *T. rangeli* fueron llevados a cabo por Marinkelle (1968a, 1968b); D'Alessandro, 1976; D'Alessandro & Gore-Saravia, 1999; Guhl & Marinkelle, 1982, y Guhl, *et al.*, 1985. *T. rangeli* y *Trypanosoma cruzi* son las dos únicas especies de tripanosomas que infectan al hombre en los países de América Latina. *T. cruzi* es el agente causal de la enfermedad de Chagas, la cual afecta a entre 7 y 8 millones de personas en las zonas endémicas, en tanto que alrededor de 60 millones se encuentran en riesgo de adquirir la infección desde el sur de los Estados Unidos hasta el sur de Argentina y Chile (Organización Panamericana de la Salud, 2007; Organización Mundial de la Salud, 2014). Aunque las infecciones humanas por *T. rangeli* son frecuentes, se considera que no es patógeno para el vertebrado, pero sí para las especies del género *Rhodnius*, las cuales son los vectores comprobados de este parásito (Guhl & Vallejo, 2003). En algunos países de América Latina las dos especies de tripanosomas se encuentran infectando a los mismos vertebrados y vectores, lo cual dificulta el acertado diagnóstico e identificación del agente causal de la enfermedad de Chagas (Vallejo, *et al.*, 1988). Es por esto que los estudios de *T. rangeli* se enmarcan dentro de la epidemiología de la enfermedad de Chagas; en los últimos años, *T. rangeli* se ha considerado como un modelo para los estudios biológicos y moleculares relacionados con las interacciones parásito-hospedero-vector, pues su conocimiento ayudará a entender la dinámica de la transmisión vectorial de *T. cruzi* y de *T. rangeli*, las bases químicas y moleculares de la patogénesis de *T. cruzi* y la ausencia de patogenia de *T. rangeli* para el vertebrado, lo cual podría conducir a la identificación de blancos terapéuticos y al desarrollo de drogas o de vacunas para el tratamiento de la enfermedad de Chagas.

### Interacción parásito-vector en *T. rangeli*

Se han reconocido cuatro componentes en la interacción parásito-vector que son determinantes en la transmisión de los tripanosomas. Estos componentes son: i) la especie, la cepa y el genotipo del tripanosoma; ii) la especie de triatomino; iii) la respuesta inmune celular y humoral del vector, y iv) la microbiota intestinal del insecto (Schaub, 2009; García, *et al.*, 2010; García, *et al.*, 2012).

Los vectores de *T. cruzi* y *T. rangeli* se infectan cuando se alimentan de sangre de mamíferos que están parasitados. A diferencia de *T. cruzi*, que es transmitido a través de las heces del vector, *T. rangeli* pasa del intestino a la hemolinfa, invade las glándulas salivares y se transmite a través de la picadura del insecto (Groot, 1954; D'Alessandro, 1976). Aunque *T. rangeli* puede infectar el intestino de cualquier especie de triatomino, los únicos vectores en los cuales hay invasión de las glándulas salivares y producción de tripomastigotes metacíclicos infectivos para el mamífero son las 19 especies hasta ahora reconocidas del género *Rhodnius* (Abad-Franch, *et al.*, 2013; da Rosa, *et al.*, 2014). En 13 de estas 19 especies se ha verificado la infección natural o experimental por *T. rangeli* (Tabla 1).

Cuando *T. rangeli* ingresa al intestino del vector, se enfrenta a simbiontes y bacterias comensales, factores hemolíticos, factores tripanolíticos y lectinas; luego, el parásito se multiplica en el intestino produciendo formas similares a los amastigotes, los epimastigotes cortos, los epimastigotes largos, los esferomastigotes y los tripomastigotes (Vallejo, *et al.*, 1988).

Después, los epimastigotes cortos atraviesan la pared intestinal y se enfrentan en la hemolinfa del insecto a los componentes del sistema inmune como las lisozimas, el sistema de la profenoloxidasas (proFO), los factores tripanolíticos, la producción de superóxido y óxido nítrico, la fagocitosis mediada por hemocitos, entre otros (García, *et al.*, 2009). Estos epimastigotes cortos invaden los hemocitos y se multiplican dentro de ellos, y luego son reemplazados por epimastigotes largos, los cuales se adhieren a las glándulas salivares y penetran en ellas para finalmente producir los tripomastigotes metacíclicos, que son las formas infectivas para el mamífero (Figura 1).

Varios trabajos resumidos por Azambuja & García, 2005; Azambuja, *et al.*, 2005; García, *et al.*, 2009, y García, *et al.*, 2012, han demostrado que el éxito de la infección de *T. rangeli* se debe a que una vez el parásito ha alcanzado el hemocele del insecto, produce una inhibición de la respuesta inmune celular y humoral, lo que permite la multiplicación del parásito en la hemolinfa, la invasión de hemocitos, la invasión de las glándulas salivares y la producción de tripomastigotes metacíclicos o formas infectivas.

### Genotipos de *T. rangeli* y su asociación con vectores del género *Rhodnius*

Existen cepas de *T. rangeli* que no logran sobrevivir a la respuesta inmune del vector o no consiguen producir formas infectivas en las glándulas salivares. También se reconoce que las especies de *Rhodnius* son susceptibles a la infección de cepas de *T. rangeli* de la misma región geográfica y no de otras regiones. En este sentido, se ha reportado que las cepas de *T. rangeli* de aislamientos procedentes de Colombia y Costa Rica no generaron tripomastigotes metacíclicos en *R. pallescens* de Panamá o *R. ecuadoriensis* de Ecuador o de

#### \* Correspondencia:

Gustavo Adolfo Vallejo; gvallejo@ut.edu.co

Recibido: 29 de octubre de 2014

Aceptado: 9 de febrero de 2015

**Tabla 1.** Genotipos de *T. rangeli* aislados de glándulas salivares en infecciones naturales o experimentales en las especies de *Rhodnius*

<i>Rhodnius</i> spp	Infección natural o experimental	kADN	SSU rARN	Referencia
<i>R. amazonicus</i>	ND	ND	ND	-
<i>R. barretti</i>	ND	ND	ND	-
<i>R. brethesi</i>	N	ND	B	Maia da Silva, et al., 2007
<i>R. colombiensis</i>	N	KP1(-)	C	Vallejo, et al., 2002, 2009a
<i>R. dalessandroi</i>	N	ND	ND	D 'Alessandro & Saravia, 1999
<i>R. domesticus</i>	E	KP1(+)	A	Machado, et al., 2001
<i>R. ecuadoriensis</i>	N	KP1(-)	C	Vallejo, et al., 2003, 2009a
<i>R. milesi</i>	ND	ND	ND	-
<i>R. montenegrensis</i>	N	ND	ND	Meneguetti, et al. , 2014
<i>R. nasutus</i>	E	ND	ND	Machado, et al., 2001
<i>R. neglectus</i>	N	KP1(+)	A	Machado, et al., 2001
<i>R. neivai</i>	N	ND	ND	D 'Alessandro & Hincapié, 1986
<i>R. pallescens</i>	N	KP1(-)	C	Vallejo, et al., 2003, 2009a; Urrea, et al., 2011
<i>R. paraensis</i>	ND	ND	ND	-
<i>R. pictipes</i>	N	ND	ND	D 'Alessandro & Saravia, 1999
<i>R. prolixus</i>	N	KP1(+)	A	Vallejo, et al., 2002, 2009a; Maia da Silva, et al., 2007; Urrea, et al., 2011
<i>R. robustus</i>	N	KP1(+)	A	Maia da Silva, et al., 2007; Vallejo, et al., 2009a; Urrea, et al., 2011
<i>R. stali</i>	ND	ND	ND	-
<i>R. zeledoni</i>	ND	ND	ND	-

N = infección natural; E= infección experimental; ND = no determinada

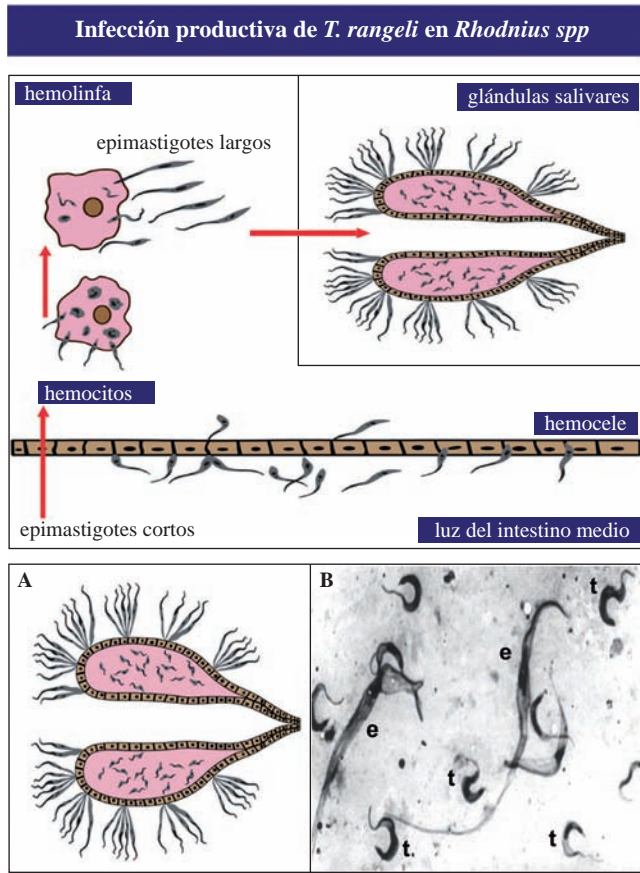
Perú (D 'Alessandro, 1976). Asimismo, las cepas aisladas de *R. colombiensis* no infectaron a *R. prolixus* de Colombia (Vallejo, et al., 2002).

El estudio de esta restricción biológica existente entre *T. rangeli* y algunas especies de *Rhodnius* comenzó con el análisis de las cepas de *T. rangeli* aisladas de dos especies simpátricas, *R. colombiensis* y *R. prolixus*, recolectadas en el municipio de Coyaima, Tolima, en la región central de Colombia. *R. prolixus* es una especie domiciliada y *R. colombiensis* es un vector silvestre que se ha encontrado en esta región visitando las viviendas humanas sin dar lugar a colonias permanentes del insecto. Mediante la caracterización molecular del ADN del cinetoplasto se logró identificar dos genotipos de *T. rangeli* denominados *T. rangeli* KP1(+) y *T. rangeli* KP1(-) (Figura 2). Todas las cepas de *T. rangeli* aisladas de las glándulas salivares de *R. colombiensis* presentaron el perfil KP1(-) y las aisladas de *R. prolixus* fueron caracterizadas como KP1(+) (Vallejo, et al., 2002). Además, se hizo la caracterización molecular de *T. rangeli* en 815 ejemplares de *R. prolixus* de diferentes regiones

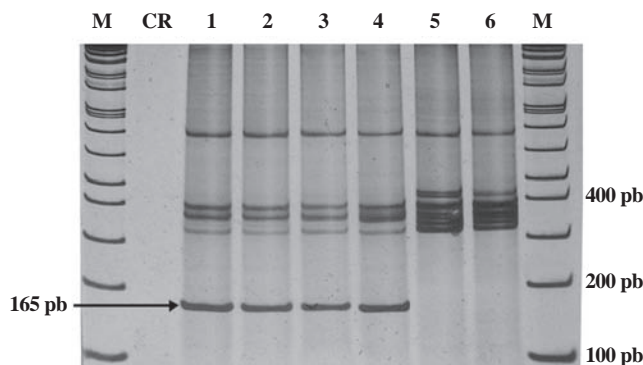
geográficas de Colombia y, mediante PCR, se detectaron en el intestino 24 cepas KP1(-) y 27 KP1(+), en tanto que las 13 aisladas de las glándulas salivares mostraron el genotipo KP1(+). Por otro lado, la caracterización molecular de *T. rangeli* en 413 ejemplares de *R. colombiensis* permitió detectar por PCR en el intestino 104 KP1(-) y 6 KP1(+), en tanto que las 22 cepas aisladas de las glándulas salivares presentaron el genotipo KP1(-) (datos no publicados). Estos resultados sugieren que ambas especies de *Rhodnius* se pueden infectar en el intestino con los genotipos KP1(+) y KP1(-), pero que *R. prolixus* solo transmite KP1(+) y *R. colombiensis* transmite KP1(-) a través de las glándulas salivares.

En nuevos aislamientos de *T. rangeli* obtenidos a partir de *R. pallescens*, *R. colombiensis*, *R. ecuadoriensis*, *R. prolixus* y *R. neglectus*, se encontró que las especies de la cordillera de los Andes (*R. pallescens*, *R. colombiensis*, *R. ecuadoriensis*) transmiten el genotipo KP1(-), mientras que *R. prolixus* y *R. neglectus*, ubicadas principalmente al oriente de la cordillera de los Andes, transmiten el genotipo KP1(+) (Urrea, et al., 2005).





**Figura 1.** A. Diagrama esquemático que muestra los epimastigotes largos (e) de *T. rangeli* adheridos a la superficie de las glándulas salivares y los tripomastigotes metacíclicos (t) en la luz de las glándulas salivares. B. Epimastigotes largos (e) y tripanomastigotes metacíclicos (t) coloreados con Giemsa (x1500) (Vallejo, 1984)



**Figura 2.** Genotipos de *T. rangeli* obtenidos mediante amplificación del kADN utilizando PCR dúplex (Vallejo, et al., 2002). Canaletas 1-4: cepas de *T. rangeli* KP1(+) aisladas de glándulas salivares de *R. prolixus*. Canaletas 5-6: *T. rangeli* KP1(-) aisladas de glándulas salivares de *R. colombiensis*. Nótese que el genotipo KP1(-) carece de la banda inferior de 165 pb derivada del minicírculo KP1, banda que solo está presente en el genotipo KP1(+). CR: control de reacción sin ADN. M: marcador de tamaño molecular, 1 Kb Plus DNA Ladder.

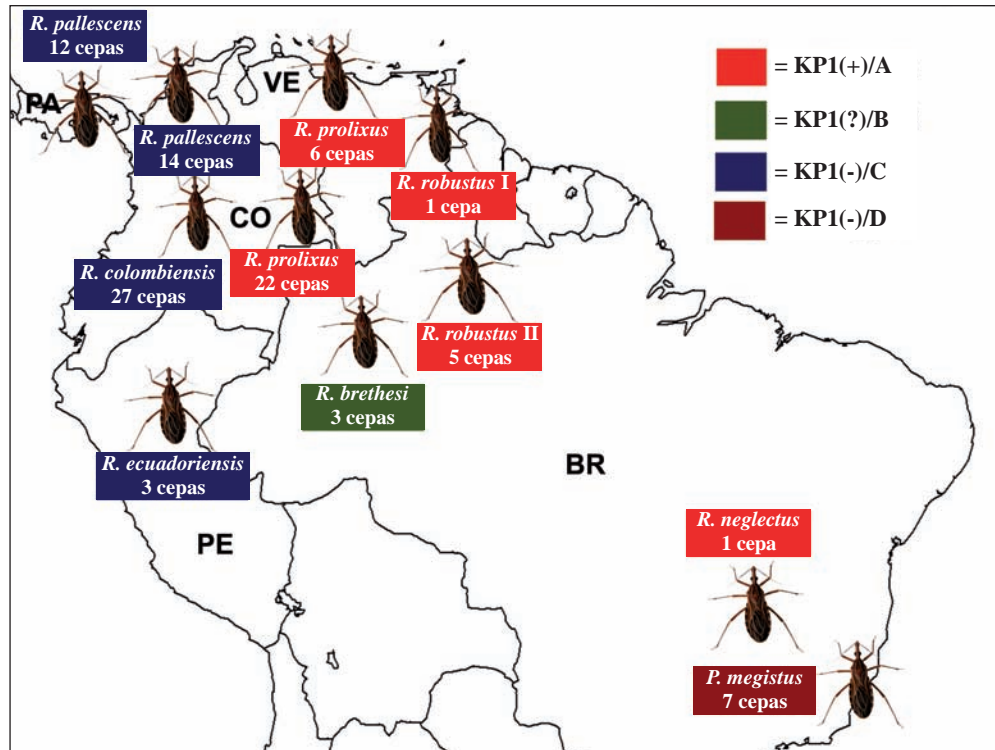
En los años siguientes, el estudio de la variabilidad de diferentes marcadores moleculares generó un aumento en la nomenclatura de *T. rangeli*. Así, la variabilidad del minicélex o líder de empalme (*Spliced Leader*) permitió describir nuevos genotipos denominados A, B, C, D y E (Maia da Silva, et al., 2004a, 2004b, 2007, 2009). El análisis de 101 cepas de *T. rangeli* correspondientes a diferentes genotipos, y su asociación con especies de *Rhodnius*, confirmó que el genotipo C corresponde a KP1(-), habiéndose aislado de *R. pallescens*, *R. colombiensis* y *R. ecuadoriensis*. El genotipo B fue aislado de *R. brethesi*, pero no se ha verificado si es KP1(+) o KP1(-). El genotipo A corresponde a KP1(+) y fue aislado de *R. prolixus*, *R. robustus* y *R. neglectus* (Vallejo, et al., 2002, 2003; Vallejo, et al., 2009a; Vallejo, et al., 2009b; Urrea, et al., 2005, 2011) (Figura 3). En Centroamérica las cepas de *T. rangeli* KP1(+) se aislaron en áreas de distribución de *R. prolixus* y las cepas de *T. rangeli* KP1(-), en áreas de distribución de *R. pallescens* (Salazar-Antón, et al., 2009).

De acuerdo con Schofield & Dujardin (1999) y Abad-Franch, et al., (2009), se han reconocido dos líneas filogenéticas principales en las especies de *Rhodnius*, denominadas la línea Pallescens y la línea Robustus. El genotipo KP1(-) se encuentra asociado a *R. pallescens*, *R. colombiensis* y *R. ecuadoriensis* (línea Pallescens) y el genotipo KP1(+), a *R. prolixus*, *R. robustus*, *R. neglectus* (línea Robustus), lo que indica la ocurrencia de procesos coevolutivos entre los genotipos de los parásitos y los vectores (Urrea, et al., 2005, 2011). Se espera que *T. rangeli* KP1(+) se detecte en infecciones naturales en *R. domesticus* y en *R. nasutus*, especies pertenecientes a la línea Robustus. Aún deben identificarse los genotipos de *T. rangeli* transmitidos naturalmente por 11 de las 19 especies de *Rhodnius*, lo cual contribuiría a confirmar la presencia de procesos coevolutivos en estas especies de vectores. La tabla 1 muestra la caracterización molecular de las cepas de *T. rangeli* aisladas de glándulas salivares en infecciones naturales o experimentales de *Rhodnius* spp.

**Actividad tripanolítica de la hemolinfa de *R. prolixus* y *R. robustus* contra genotipos de *T. rangeli***

Después de analizar más de 100 cepas de *T. rangeli* aisladas de glándulas salivares de *Rhodnius* spp, nunca se encontró a *R. prolixus* con *T. rangeli* KP1(-) ni a *R. pallescens*, *R. colombiensis* o *R. ecuadoriensis* con KP1(+). Esto llevó a sospechar la existencia de factores inhibitorios contra genotipos de *T. rangeli* presentes en la hemolinfa o en las glándulas salivares de los vectores.

La hemolinfa de *R. prolixus* y *R. robustus*, libre de hemocitos, se ha incubado con los genotipos de *T. rangeli*, encontrándose actividad tripanolítica contra epimastigotes de KP1(-) aislados de *R. colombiensis*, *R. pallescens* y *R. ecuadoriensis*, pero no contra epimastigotes KP1(+) (Pulido, et al., 2008). Recientemente hemos encontrado en



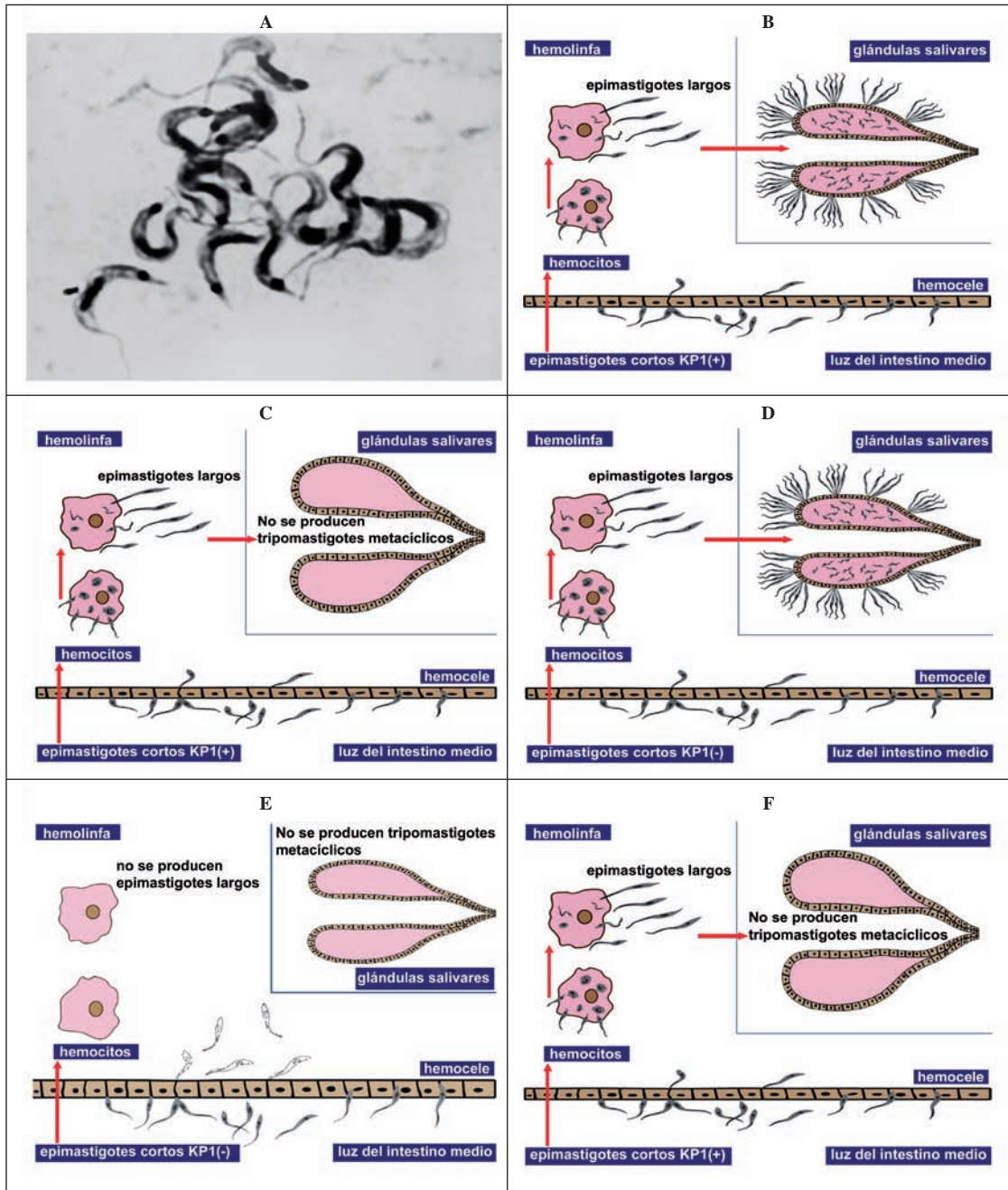
**Figura 3.** Distribución geográfica de los genotipos de 101 cepas de *T. rangeli* aisladas de glándulas salivares de diferentes especies de *Rhodnius*. El genotipo C, aislado de las especies de la cordillera de los Andes *R. pallescens*, *R. colombiensis* y *R. ecuadoriensis*, corresponde al genotipo KP1(-) (KP1(-)/C), mientras que las especies aisladas al oriente de la cordillera de los Andes, *R. prolixus*, *R. robustus* y *R. neglectus*, presentan el genotipo A correspondiente a KP1(+) (KP1+/A). Se desconoce el perfil de kADN del genotipo B. Las cepas de *T. rangeli* aisladas del intestino de *Panstrongylus megistus* en el suroriente del Brasil correspondieron al genotipo KP1(-) o D (KP1-/D). (Vallejo, et al., 2002, 2003, 2009a, 2009b; Urrea, et al., 2005, 2011).

nuestro laboratorio que los epimastigotes cortos de las cepas de *T. rangeli* KP1(-) son sensibles a la lisis de la hemolinfa de *R. prolixus*, en contraste con los epimastigotes largos, los cuales son resistentes. Las hemolinfas de *R. pallescens*, *R. colombiensis*, *R. ecuadoriensis*, *Triatoma dimidiata* y *Triatoma maculata* no presentaron actividad tripanolítica contra los genotipos KP1(+) o KP1(-).

La presencia de factores tripanolíticos no es el único factor que limita el desarrollo de *T. rangeli*, pues el control para generar una infección productiva de tripomastigotes metacíclicos probablemente se encuentra asociado a la presencia o ausencia de lectinas en la superficie del parásito o en las glándulas salivares que impiden la adhesión, el ingreso y la producción de las formas infectivas (Basseri, et al., 2002). En estudios recientes se ha demostrado que la infección exitosa de *T. rangeli* para generar tripomastigotes metacíclicos está asociada con la producción de ectofosfatasa en el parásito (Gomes, et al., 2008; Dos-Santos, et al., 2012; Dos-Santos, et al., 2013; Freitas-Mesquita & Meyer-Fernández, 2014).

La figura 4 muestra el curso de la infección de *T. rangeli* KP1(+) y *T. rangeli* KP1(-) en diferentes especies de triatomos. Se ha observado que cuando *T. rangeli* KP1(+) infecta

a *R. prolixus*, *R. robustus* o *R. neglectus*, los epimastigotes cortos atraviesan la pared intestinal e ingresan al hemocele, invaden los hemocitos y se multiplican dentro de ellos, y que los epimastigotes cortos luego son reemplazados por epimastigotes largos, los cuales se adhieren a las glándulas salivares y penetran en ellas para finalmente producir los tripomastigotes metacíclicos, que son las formas infectivas para el mamífero (Figura 4B). Otras observaciones inéditas en nuestro laboratorio mostraron que cuando *T. rangeli* KP1(+) infecta a *R. pallescens* y *R. colombiensis*, los epimastigotes cortos atraviesan la pared intestinal e ingresan al hemocele, invaden los hemocitos y se multiplican dentro de ellos, y luego se producen epimastigotes largos, que, sin embargo, son incapaces de adherirse a la superficie de las glándulas salivares y, por ende, no se producen tripomastigotes metacíclicos, probablemente por ausencia de lectinas específicas para facilitar la adhesión o por la ausencia de sustratos para las ectofosfatasa del parásito (Figura 4C). En contraste, cuando *T. rangeli* KP1(-) infecta a *R. pallescens*, *R. colombiensis* y *R. ecuadoriensis*, los epimastigotes cortos atraviesan la pared intestinal e ingresan al hemocele, invaden los hemocitos y se multiplican dentro de ellos, y luego los epimastigotes cortos son reemplazados por epimastigotes largos, los cuales se adhieren a las glándulas



**Figura 4.** Desarrollo de las infecciones de *T. rangeli* KP1(+) y *T. rangeli* KP1(-) en diferentes especies de triatominos. **4A.** Tripomastigotes metacíclicos en glándulas salivares de *R. prolixus*, coloreados con Giemsa (x3.000) (Vallejo, 1984). **4B.** Infección de *T. rangeli* KP1(+) con producción de tripomastigotes metacíclicos en *R. prolixus*, *R. robustus* y *R. neglectus*. **4C.** Infección de *T. rangeli* KP1(+) en *R. pallidus* y *R. colombiensis* sin producción de tripomastigotes metacíclicos. **4D.** Infección de *T. rangeli* KP1(-) con producción de tripomastigotes metacíclicos en *R. pallidus*, *R. colombiensis* y *R. ecuadoriensis*. **4E.** Infección de *T. rangeli* KP1(-) en *R. prolixus* y *R. robustus* sin producción de tripomastigotes metacíclicos debido a que los epimastigotes cortos son lisados inmediatamente después de penetrar en la hemolinfa. **4F.** Infección de *T. rangeli* KP1(+) sin producción de tripomastigotes metacíclicos en *Triatoma infestans*, *Triatoma braziliensis*, *Triatoma sordida*, *Triatoma vitticeps* y *P. megistus* (De Stefani- Márquez, et al., 2006).

salivares, penetran en ellas para finalmente producir los tripomastigotes metacíclicos (Figura 4D). Cuando *T. rangeli* KP1(-) infecta a *R. prolixus* y *R. robustus*, los epimastigotes cortos atraviesan la pared intestinal e ingresan al hemocele

e inmediatamente son lisados por factores tripanolíticos presentes en la hemolinfa, de manera que no hay invasión de los hemocitos ni multiplicación dentro de ellos, y no se producen epimastigotes largos ni tripomastigotes metacíclicos



(Figura 4E). De Stefani-Márquez, *et al.*, (2006) infectaron *Triatoma infestans*, *Triatoma braziliensis*, *Triatoma sordida*, *Triatoma vitticeps* y *Panstrongylus megistus* con *T. rangeli* KPI(+) y observaron que los epimastigotes cortos atraviesan la pared intestinal, ingresan al hemocele, invaden los hemocitos y se multiplican dentro de ellos, y luego se producen epimastigotes largos, que, sin embargo, son incapaces de adherirse a la superficie de las glándulas salivares y no producen tripomastigotes metacíclicos (Figura 4F).

El conocimiento sobre los mecanismos bioquímicos o moleculares de la interacción de los tripanosomas y los vectores es aún incompleto, por lo tanto, es necesario identificar los genotipos de *T. rangeli* que son transmitidos por el resto de las 19 especies de *Rhodnius*, reconocer la estructura química del factor o factores tripanolíticos y comparar la expresión de los factores inmunes en las especies que presentan actividad tripanolítica o impiden la formación de tripomastigotes metacíclicos en las glándulas salivares. También deberá estudiarse el proteoma de las hemolinfas con actividad lítica y sin esta, así como el proteoma de las cepas sensibles o resistentes a la actividad lítica, para confirmar si la transmisión selectiva se extiende a todas las 19 especies de *Rhodnius*. Nuestro grupo de investigación está adelantando la identificación de proteínas en la hemolinfa de los vectores que podrían estar involucradas en la lisis de los genotipos de *T. rangeli* (Suárez, *et al.*, 2013). Igualmente, será necesario estudiar si existe alguna relación entre los factores tripanolíticos y la microbiota presente en el intestino del vector.

#### ***T. cruzi*: interacción parásito-vector**

Debido a que en los últimos años se han acumulado evidencias acerca de la transmisión selectiva de los genotipos de *T. rangeli* en los vectores del género *Rhodnius*, ha surgido interés en la búsqueda de mecanismos similares en los vectores de *T. cruzi*, los cuales incluyen 148 especies de diferentes géneros de triatomíneos (Justi, *et al.*, 2014). A diferencia de *T. rangeli*, *T. cruzi* se desarrolla solamente en el intestino del vector y, por lo tanto, se enfrenta a factores propios del intestino como enzimas, hemolisinas y factores derivados de la microbiota. Aunque *T. cruzi* no circula por la hemolinfa del vector, estudios previos publicados por Mello, *et al.* (1996) mostraron factores tripanolíticos contra *T. cruzi* en la hemolinfa de *R. prolixus*. Por esta razón, nuestro grupo decidió explorar si en la hemolinfa de *R. prolixus* era posible detectar factores tripanolíticos contra las diferentes genotipos de *T. cruzi* (I-VI) previamente descritos por Zingales, *et al.* (2009, 2012). Utilizando la misma metodología usada para *T. rangeli*, se observó que la hemolinfa de *R. prolixus* presentó actividad lítica contra *T. cruzi* II y *T. cruzi* V (Zabala, *et al.*, 2011; Suárez, *et al.*, 2011). Esta actividad tripanolítica también se ha observado en *R. robustus* y se sospecha que está presente en las restantes especies del grupo Robustus: *R. neglectus*, *R. domesticus* y *R. nasutus*. Un factor tripanolítico con actividad para los

mismos genotipos de *T. cruzi* se detectó en el estómago de *R. prolixus* (Suárez, *et al.*, 2012). Llama la atención el hecho de que en las áreas geográficas en donde está presente *R. prolixus* predomina el genotipo *T. cruzi* I, el cual es resistente al factor tripanolítico, mientras que *T. cruzi* II, que es sensible, presenta muy baja prevalencia en estas áreas.

Además, en los últimos años se ha logrado identificar el papel de la microbiota del intestino de los vectores como reguladora de la respuesta inmune y de la infección por *T. cruzi* y por *T. rangeli* (Castro, *et al.*, 2012; Vallejo, *et al.*, 2009a). Se ha demostrado que la microbiota de *R. prolixus* produce lisis de *T. cruzi* II pero no de *T. cruzi* I. Se desconoce si existe alguna relación entre el factor tripanolítico detectado en la hemolinfa de *R. prolixus* y la microbiota intestinal, por lo tanto, es necesario realizar nuevos estudios en esta dirección. En concordancia con lo anterior, en Colombia se ha visto que en las infecciones naturales de *Rhodnius* predomina *T. cruzi* I sobre *T. cruzi* II (Vallejo, *et al.*, 2009b). Incluso en las infecciones generales en vectores y vertebrados existe predominio de *T. cruzi* I sobre *T. cruzi* II.

Durante el ciclo de vida de *T. cruzi* el parásito no llega a la hemolinfa del vector, por lo tanto, el factor tripanolítico de la hemolinfa de *R. prolixus* no tendría ningún efecto sobre el parásito. No obstante, se cree que este factor tripanolítico detectado en la hemolinfa podría ser un remanente de la inmunidad innata generada en otros tejidos, como el intestino o el cuerpo graso del vector, contra genotipos de *T. cruzi*. Estos resultados apoyan la hipótesis sobre la distribución geográfica de los genotipos de *T. cruzi* y *T. rangeli*, la cual dependería de la distribución geográfica de los vectores en América Latina.

#### **Análisis del transcriptoma y del genoma de *T. rangeli***

La variabilidad genética de *T. rangeli*, su patogenia para el vector, y el hecho de ser infectivo pero no patógeno para el humano, ha estimulado los estudios de transcripción genómica de este parásito con el objetivo de compararlo con *T. cruzi*, *T. brucei* y *Leishmania* spp y así entender las bases moleculares de la patogenia de estas últimas especies y la ausencia de patogenia de *T. rangeli* para el vertebrado. Grisard, *et al.*, (2010) determinaron el perfil de expresión de *T. rangeli* a partir de la generación de etiquetas de secuencias expresadas (*expressed sequence tag*, EST) y una técnica denominada ORESTES, que combina los marcos abiertos de lectura (*open reading frame*, ORF) y las EST. Se analizaron 4.208 secuencias a partir de epimastigotes y tripomastigotes de la cepa SC-58, aislada de Santa Catarina (Brasil) y la Choachí, aislada de Cundinamarca (Colombia), representantes de los genotipos KPI(-) y KPI(+), respectivamente. El análisis comparativo de *T. cruzi*, *T. brucei* y *Leishmania major* permitió asignar las funciones biológicas putativas a la mayoría de las secuencias generadas y la organización de una base de genes anotados de *T. rangeli*. Aunque no es patógeno para los mamíferos,

varios genes asociados con virulencia en otras especies de cinetoplastidos patógenos se encontraron en *T. rangeli*, de manera que el significado biológico de la transcripción de estos genes requiere nuevos estudios. **Grisard, et al.**, (2010) estimaron en 8.500 el número de genes de *T. rangeli*, confirmaron la cercanía filogenética entre *T. cruzi* y *T. rangeli* e identificaron varios elementos transponibles, genes asociados a la expresión mitocondrial y genes específicos de la edición de ARN.

La genómica comparativa es una poderosa herramienta que al ser utilizada entre organismos patógenos filogenéticamente relacionados permite entender los fundamentos bioquímicos relacionados con sus ciclos de vida y las bases moleculares de las enfermedades que causan en el humano. En la actualidad se han secuenciado 25 especies del orden Kinetoplastida, incluidas especies de diferentes géneros de parásitos que infectan insectos y mamíferos, de los cuales los genomas de *T. brucei*, *T. cruzi* y *L. major* se han considerado como modelos. A estos se han añadido nuevas secuencias de genomas de *Leishmania* y *Trypanosoma* para estudiar comparativamente la biología compleja de las especies que infectan al humano. La secuenciación reciente del genoma de la cepa SC-58 de *T. rangeli* KP1(-), o genotipo D, es la primera lograda en esta especie infectiva, no patógena para el humano pero sí para el insecto vector (**Stoco, et al.**, 2014). El genoma haploide de *T. rangeli* es hasta hoy el más pequeño y menos variable de los tres genomas de tripanosomas que infectan al hombre: *T. cruzi*, 89,9 Mb, *T. brucei*, 26 Mb, y *T. rangeli*, 24 Mb. El genoma de *T. rangeli* fue comparado con el de *T. cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas, y se encontraron diferencias entre las cuales se destacan las siguientes: 1) *T. rangeli* posee en su genoma menor número de copias de las familias multigénicas consideradas como factores de virulencia en *T. cruzi*, tales como las proteínas de superficie asociadas a mucinas (*mucin-associated surface proteins*, MASP), trans-sialidasas y mucinas. Las trans-sialidasas en *T. cruzi* remueven el ácido siálico de la superficie de las células del huésped y lo colocan sobre las moléculas de mucina de la superficie del parásito (**Frasch**, 2000). Esta transferencia de ácido siálico confiere protección al parásito frente a la activación de la cascada del complemento del huésped. Por el contrario, la sialidasa de *T. rangeli* no permanece unida a la superficie celular del parásito, sino que es liberada abundantemente en el medio de cultivo o en el intestino del vector, razón por la cual se sospecha que esta enzima podría alterar la microbiota intestinal y estar involucrada en la patogenia comprobada de *T. rangeli* para las especies de *Rhodnius* (**Pereira & Moss**, 1985; **Vallejo & Marinkelle**, 1992; **Stoco, et al.**, 2014); 2) *T. rangeli* posee en su genoma un reducido repertorio de genes que codifican enzimas de defensa antioxidante, de manera que *T. rangeli* es altamente susceptible al estrés oxidativo debido a la presencia de un pequeño número de estas enzimas y proteínas de choque térmico; 3) *T. rangeli* posee ortólogos vestigiales de la maquinaria de ARNi, la cual

es insuficiente para constituir una vía bioquímica funcional. Además, el análisis filogenético de genes mitocondriales y nucleares indicó que *T. rangeli* y *T. cruzi* son equidistantes de *T. brucei* (**Stoco, et al.**, 2014). En general, el análisis comparativo del genoma de *T. rangeli* permitirá un mayor entendimiento de la identidad, evolución, regulación y funcionamiento de los determinantes de la virulencia de los tripanosomas patógenos para los hospederos vertebrados y para los vectores; permitirá, igualmente, desarrollar mejores métodos de diagnóstico, así como la identificación de blancos terapéuticos para el tratamiento y el control de los tripanosomátidos patógenos.

## Conclusiones

Después de la descripción de *T. rangeli* por Enrique Tejera en Venezuela en 1920, eminentes parasitólogos de Colombia y de América Latina han estudiado durante los últimos 94 años a este fascinante parásito infectivo y no patógeno para los humanos, pero patógeno para los insectos vectores. Los estudios bioquímicos y moleculares realizados en los últimos 25 años han revelado una extensa variabilidad genética del parásito y han mostrado la existencia de diversos genotipos que han evolucionado concertadamente con las especies de *Rhodnius*, de manera que los vectores han desarrollado mecanismos que impiden la transmisión de algunos genotipos pero permiten la transmisión de otros. Es así como *T. rangeli* KP1(-) circula en la línea evolutiva Pallescens (*R. pallescens*, *R. colombiensis*, *R. ecuadoriensis*) y *T. rangeli* KP1(+) circula en la línea Robustus (*R. prolixus*, *R. robustus*, *R. neglectus*). Nuestro grupo de investigación describió la existencia de factores tripanolíticos presentes en la hemolinfa de *R. prolixus* y *R. robustus* que eliminan las cepas de *T. rangeli* KP1(-), pero permiten la transmisión de *T. rangeli* KP1(+). Los factores tripanolíticos en la hemolinfa de *R. prolixus* y *R. robustus* también afectan la transmisión de algunos genotipos de *T. cruzi*, lo que sugiere que la dinámica de transmisión de los genotipos de *T. cruzi* y de *T. rangeli* depende fundamentalmente de las especies de vectores existentes en las diferentes áreas geográficas endémicas para estas dos especies de tripanosomas en América Latina.

Durante los últimos 10 años se han abordado los estudios genómicos y de transcripción de *T. rangeli* con la finalidad de comparar esta información con estudios similares en parásitos patógenos como *T. cruzi*, *T. brucei* y *Leishmania trópica*. Se encontró que el genoma de *T. rangeli* es el más pequeño y el menos repetitivo de los genomas de las tres especies de tripanosomas que infectan al hombre, lo que indica que las familias génicas que responden por la patogenia de *T. cruzi* para el vertebrado, se expresan en muy baja proporción en el genoma de *T. rangeli*, de forma que este carece del suficiente arsenal de proteínas y enzimas como las MASP y las trans-sialidasas, necesarias para invadir las células del mamífero. A diferencia de *T. cruzi*, *T. rangeli* secreta copiosamente las sialidasas en el intestino de



los vectores, lo cual podría afectar la microbiota bacteriana del insecto y generar un efecto patógeno para el vector (Stoco, *et al.*, 2014). Algunos investigadores consideran que en las regiones donde *T. rangeli* coexiste con *T. cruzi* en los mismos vectores y vertebrados, las infecciones de *T. rangeli* podrían alterar el curso de la enfermedad de Chagas en los vertebrados (Paláu, *et al.*, 2003), pues se ha observado que la vacunación de ratones, cobayos y perros con *T. rangeli* induce protección inmunitaria contra cepas virulentas de *T. cruzi* (Basso, *et al.*, 2007; Basso, *et al.*, 2008, 2014), lo que abre nuevas perspectivas para el control de la enfermedad de Chagas en los reservorios domésticos y, probablemente, en los humanos.

### Agradecimientos

Este trabajo está dedicado a la memoria del Dr. Cornelis Johannes Marinkelle (q.e.p.d.), bajo cuya dirección Gustavo Adolfo Vallejo, autor principal del presente artículo, inició en 1981 los estudios de *T. rangeli* en el CIMPAT de la Universidad de los Andes de Bogotá, y con quien mantuvo durante los siguientes 31 años estimulantes discusiones que motivaron y orientaron la búsqueda de respuestas al enigmático comportamiento de este parásito infectivo y no patógeno para el humano.

Información suplementaria de agradecimientos, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/download/SuppFile/143/623>

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses relacionados con el contenido del presente artículo.

### Bibliografía

Abad-Franch, F., Monteiro, F.A., Jaramillo, O. N., Gurgel-Gonçalves, R., Dias, F.B., Diotaiuti, L. 2009. Ecology, evolution, and the long-term surveillance of vector-borne Chagas disease: A multi-scale appraisal of the tribe Rhodniini (Triatominae). *Acta Tropica*. **110** (2-3): 159-177. doi: 10.1016/j.actatropica.2008.06.005.

Abad-Franch, F., Pavan, M.G., Jaramillo-O, 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*. **108** Suppl 1: 92-99. doi: 10.1590/0074-0276130434.

Azambuja, P. & García, E.S. 2005. *Trypanosoma rangeli* interactions within the vector *Rhodnius prolixus*: A mini review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. **100** (5): 567-572.

Azambuja, P., Ratcliffe, N.A., García, E.S. 2005. Towards an understanding of the interactions of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* within the reduviid insect host *Rhodnius prolixus*. *Acad Bras Cienc*. **77** (3): 397-404.

Basseri, H.R., Tew, I.F., Ratcliffe, N.A. 2002. Identification and distribution of carbohydrate moieties on the salivary glands of *Rhodnius prolixus* and their possible involvement in

attachment/invasion by *Trypanosoma rangeli*. *Experimental Parasitology*. **100**: 226-234.

- Basso, B., Castro, I., Introini, V., Gil, P., Truyens, C., Moretti, E. 2007. Vaccination with *Trypanosoma rangeli* reduces the infectiousness of dogs experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. *Vaccine*. **25** (19): 3855-3858.
- Basso, B., Moretti, E., Fretes, R. 2008. Vaccination with epimastigotes of different strains of *Trypanosoma rangeli* protects mice against *Trypanosoma cruzi* infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. **103** (4): 370-374.
- Basso, B., Moretti, E., Fretes, R. 2014. Vaccination with *Trypanosoma rangeli* induces resistance of guinea pigs to virulent *Trypanosoma cruzi*. *Vet Immunol Immunopathol*. **157** (1-2): 119-123. doi: 10.1016/j.vetimm.2013.10.011.
- Castro, D.P., Moraes, C.S., González, M.S., Ratcliffe, N.A., Azambuja, P., García, E.S. 2012. *Trypanosoma cruzi* Immune Response Modulation Decreases Microbiota in *Rhodnius prolixus* Gut and Is Crucial for Parasite Survival and Development. *PLoS ONE*. **7** (5): e36591.
- D'Alessandro, A. 1976. Biology of *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli* Tejera, 1920. In WHR Lumsden & DA Evans (editors), *Biology of Kinetoplastida*, Vol. 1, Academic Press, London, New York and San Francisco, pp. 327-493.
- D'Alessandro, A., Hincapié, O. 1986. *Rhodnius neivai*: A new experimental vector of *Trypanosoma rangeli*. *Am J Trop Med Hyg*. **35**: 512-514.
- D'Alessandro-Bacigalupo, A., Gore-Saravia, N. 1999. *Trypanosoma rangeli*. In: Gilles Herbert, M. (Ed.), *Protozoal Diseases*. Oxford University Press, Oxford, pp. 398-412.
- da Rosa, J.A., Mendonça, V.J., Gardim, S., de Carvalho, D.B., de Oliveira, J., Nascimento, J.D., Pinotti, H., Pinto, M.C., Cilense, M., Galvão, C., Barata, J.M. 2014. Study of the external female genitalia of 14 *Rhodnius* species (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) using scanning electron microscopy. *Parasit Vectors*. **7**: 17. doi: 10.1186/1756-3305-7-17.
- De Stefani-Márquez, M.D., Rodrigues-Ottaiano, C., Mônica Oliveira, R., Pedrosa, A.L., Cabrine-Santos, M., Lages-Silva, E., Ramírez, L.E. 2006. Susceptibility of different triatomine species to *Trypanosoma rangeli* experimental infection. *Vector Borne Zoonotic Dis*. **6** (1): 50-56.
- Dos-Santos, A.L.A., Dick, C.F., Alves-Bezerra, M., Silveira, T.S., Paes, L.S., Gondim, K.C., Meyer-Fernandes, J.R. 2012. Interaction between *Trypanosoma rangeli* and the *Rhodnius prolixus* salivary gland depends on the phosphotyrosine ecto-phosphatase activity of the parasite. *International Journal for Parasitology*. **42**: 819-827.
- Dos-Santos, A.L.A., Dick, C.F., Silveira, T.S., Fonseca-de-Souza, A.L., Meyer-Fernandes, J.R. 2013. *Trypanosoma rangeli*: An alkaline ecto-phosphatase activity is involved with survival and growth of the parasite. *Experimental Parasitology*. **135**: 459-465.
- Frasch, A.C.C. 2000. Functional diversity in the trans-sialidase and mucin families in *Trypanosoma cruzi*. *Parasitol Today*. **16**: 282-286.

- Freitas-Mesquita, A.L., & Meyer-Fernandes, J.R.** 2014. Ecto-nucleotidases and ecto-phosphatases from *Leishmania* and *Trypanosoma* Parasites. Proteins and proteomics of *Leishmania* and *Trypanosoma* Subcellular Biochemistry. **74**: 217-252.
- Garcia, E.S., Castro, D.P., Figueiredo, M.B., Genta, F.A., Azambuja, P.** 2009. *Trypanosoma rangeli*: A new perspective for studying the modulation of immune reactions of *Rhodnius prolixus*. Parasit Vectors. **2** (1): 33. doi: 10.1186/1756-3305-2-33
- Garcia, E.S., Genta, F.A., de Azambuja, P., Schaub, G.A.** 2010. Interactions between intestinal compounds of triatomines and *Trypanosoma cruzi*. Trends Parasitol. **26** (10): 499-505. doi: 10.1016/j.pt.2010.07.003
- Garcia, E.S., Castro, D.P., Figueiredo, M.B., Azambuja, P.** 2012. Parasite-mediated interactions within the insect vector: *Trypanosoma rangeli* strategies. Parasit Vectors. **5**: 105. doi: 10.1186/1756-3305-5-105
- Gomes, S.A.O., Fonseca de Souza, A.L., Kiffer-Moreira, T., Dick, C.F., dos Santos, A.L.A., Meyer-Fernandes, J.R.** 2008. Ecto-phosphatase activity on the external surface of *Rhodnius prolixus* salivary glands: Modulation by carbohydrates and *Trypanosoma rangeli*. Acta Tropica. **106**: 137-142.
- Grisard, E.C., Stoco, P.H., Wagner, G., Sincero, T.C.M., Rotava, G., Rodrigues, J.B., Snoeijs, C.Q., Koerich, L.B., Sperandio, M.M., Bayer-Santos, E., Fragoso, S.P., Goldenberg, S., Triana, O., Vallejo, G.A., Tyler, K.M., Dávila, A.M.R., Steindel, M.** 2010. Transcriptomic analyses of the avirulent protozoan parasite *Trypanosoma rangeli*. Molecular and Biochemical Parasitology. **174**: 18-25.
- Groot, H., Renjifo, S., Uribe, C.** 1950. Nota preliminar sobre inoculación a un voluntario humano con *Trypanosoma* sp. (Ariarii). An. Soc. Biol. Bogotá. **4**: 99-103.
- Groot, H., Renjifo, S., Uribe, C.** 1951. *Trypanosoma ariarii*. N. sp. from man, found in Colombia. Am. J. Trop. Med. **31**: 673-691.
- Groot, H.** 1952. Further observations on *Trypanosoma ariarii* in Colombia. Am. J. Trop. Med. Hyg. **1** (4): 585-592.
- Groot, H.** 1954. Estudios sobre los tripanosomas humanos clasificados como *T. rangeli* con especial referencia a su evolución en *Rhodnius prolixus* y a su comparación con *T. ariarii*. An. Soc. Biol. Bogotá. **6** (3): 109-126.
- Guhl, F. & Marinkelle, C.J.** 1982. Antibodies against *Trypanosoma cruzi* in mice infected with *T. rangeli*. Ann. Trop. Med. Parasitol. **76**: 361.
- Guhl, F., Hudson, L., Marinkelle, C.J., Morgan, S., Jaramillo, C.** 1985. Antibody response to experimental *Trypanosoma rangeli* infection and its implications for immunodiagnosis of South American trypanosomiasis. Acta Trop **42**: 311-318.
- Guhl, F. & Vallejo, G.A.** 2003. *Trypanosoma* (Herpetosoma) *rangeli* Tejera, 1920: An updated review. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. **98** (4): 435-442.
- Justi, S.A., Russo, C.A., Mallet, J.R., Obara, M.T., Galvão, C.** 2014. Molecular phylogeny of Triatomini (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). Parasit. Vectors. **7**: 149. doi: 10.1186/1756-3305-7-149
- Machado, P.E., Eger-Mangrich, I., Rosa, G., Koerich, L.B., Grisard, E.C., Steindel, M.** 2001. Differential susceptibility of triatominae of the genus *Rhodnius* to *Trypanosoma rangeli* strains from different geographical origins. Int J Parasitol. **31**: 631- 633.
- Maia da Silva, F., Rodrigues, A.C., Campaner, M., Takata, C.S.A., Brígido, M.C., Junqueira, A.C.V., Coura, J.R., Takeda, G.F., Shaw, J.J., Teixeira, M.M.G.** (2004a). Randomly amplified polymorphic DNA analysis of *Trypanosoma rangeli* and allied species from human, monkeys and other sylvatic mammals of the Brazilian Amazon disclosed a new group and a species-specific marker. Parasitology. **128**: 283-294.
- Maia da Silva, F., Noyes, H., Campaner, M., Junqueira, A.C.V., Coura, J.R., Añez, N., Shaw, J.J., Stevens, J.R., Teixeira, M.M.G.** 2004b. Phylogeny, taxonomy and grouping of *Trypanosoma rangeli* isolates from man, triatomines and sylvatic mammals from widespread geographical origin based on SSU and ITS ribosomal sequences. Parasitology. **129**: 549-561.
- Maia da Silva, F., Junqueira, A.C., Campaner, M., Rodrigues, A.C., Crisante, G., Ramírez, L.E., Caballero, Z.C., Monteiro, F.A., Coura, J.R., Añez, N., Teixeira, M.M.** 2007. Comparative phylogeography of *Trypanosoma rangeli* and *Rhodnius* (Hemiptera: Reduviidae) supports a long coexistence of parasite lineages and their sympatric vectors. Mol. Ecol. **16**: 3361-3373.
- Maia da Silva, F., Marcili, A., Lima, L., Cavazzana Jr., M., Ortiz, P.A., Campaner, M., Takeda, G.F., Paiva, F., Nunes, V.L.B., Camargo, E.P., Teixeira, M.M.G.** 2009. *Trypanosoma rangeli* isolates of bats from Central Brazil: Genotyping and phylogenetic analysis enable description of a new lineage using spliced-leader gene sequences. Acta Trop. **109**: 199-207.
- Marinkelle, C.J.** 1968a. *Triatoma dimidiata capitata*, a natural vector of *Trypanosoma rangeli* in Colombia. Rev Biol Trop. **15**: 203-205.
- Marinkelle, C.J.** 1968b. Pathogenicity of *Trypanosoma rangeli* for *Rhodnius prolixus* Stal in nature. J Med Entomol **5**: 497- 499.
- Mello, C.B., Azambuja, P., Garcia, E.S., Ratcliffe, N.A.** 1996. Differential *in vitro* and *in vivo* behavior of three strains of *Trypanosoma cruzi* in the gut and hemolymph of *Rhodnius prolixus*. Exp Parasitol. **82** (2): 112-121.
- Meneguetti, D.U.O., Soares, E.B., Campaner, M., Camargo, L.M.A.** 2014. First report of *Rhodnius montenegrensis* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) infection by *Trypanosoma rangeli*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. **47** (3): 374-376. doi:10.1590/0037-8682-0179-2013
- Organización Panamericana de Salud.** 2007. Estimación cuantitativa de la enfermedad de Chagas en las Américas. Montevideo: (OPS/HDM/CD/425-06); pp. 6-17.
- Organización Mundial de la Salud.** 2014. La enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis Americana). Nota descriptiva N° 340. 2014. Fecha de consulta: 4 de septiembre de 2014. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/index.html>

- Paláu, M.T., Mejía, A.J., Vergara, U. Zúñiga, C.A.** 2003. Action of *Trypanosoma rangeli* in Infections with virulent *Trypanosoma cruzi* populations. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. **98** (4): 543-548.
- Pereira, M.E.A. & Moss, D.** 1985. Neuraminidase activity in *Trypanosoma rangeli*. Molecular and Biochemical Parasitology. **15**: 95-103.
- Pulido, X.C., Pérez, G., Vallejo, G.A.** 2008. Preliminary characterization of a *Rhodnius prolixus* hemolymph trypanolytic protein, this being a determinant of *Trypanosoma rangeli* KP1(+) and KP1(-) subpopulations' vectorial ability. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. **103** (2): 172-179.
- Salazar-Antón, F., Urrea, D.A., Guhl, F., Arévalo, C., Azofeifa G., Urbina A., Blandón-Naranjo, M. Sousa, O.E., Zeledón, R., Vallejo, G.A.** 2009. *Trypanosoma rangeli* genotypes association with *Rhodnius prolixus* and *R. pallidus* allopatric distribution in Central America. Infection, Genetics and Evolution. **9**: 1306-1310.
- Schaub, G.A.** 2009. Interactions of Trypanosomatids and Triatomines. In Stephen J. Simpson and Jerome Casas: Advances in Insect Physiology, Vol. 37, Burlington: Academic Press. pp.177-242. ISBN: 978-0-12-374829-4.
- Schofield, C.J. & Dujardin, J.P.** 1999. Theories on the evolution of *Rhodnius*. Actualidades Biológicas. **21**: 183-197.
- Stoco, P.H., Wagner, G., Talavera-Lopez, C., Gerber, A., Zaha, A., Thompson, C.E., Bartholomeu, D.C., Lückemeyer, D.D., Bahia, D., Loreto, E., Prestes, E.B., Lima, F.M., Rodrigues-Luiz, G., Vallejo, G.A., Filho, J.F., Schenkman, S., Monteiro, K.M., Tyler, K.M., Almeida, L.G., Ortiz, M.F., Chiurillo, M.A., Moraes, M.H., Cunha Ode. L., Mendonça-Neto, R., Silva, R., Teixeira, S.M., Murta, S.M., Sincero, T.C., Mendes, T.A., Urmenyi, T.P., Silva, V.G., Da Rocha, W.D., Andersson, B., Romanha, A.J., Steindel, M., Vasconcelos, A.T., Grisard, E.C.** 2014. Genome of the Avirulent Human-Infective Trypanosome-*Trypanosoma rangeli*. PLoS Negl. Trop. Dis. **8** (9): e3176. doi: 10.1371/journal.pntd.0003176
- Suárez, Y., Vega, N., Zabala, D., Granada, Y., Roa, L., Gaitán X., Alvarado, U., Serrato C., Montilla, M., Teixeira, M., Urrea, D., Villa, L., Carranza, J.C., Vallejo G.A.** 2011. Factores tripanolíticos de la hemolinfa de *Rhodnius prolixus* que actúan sobre *Trypanosoma cruzi* II, V y VI, pero no sobre *T. cruzi* I, sugieren una transmisión selectiva de genotipos en Colombia, Venezuela y Centroamérica. Memorias del XX Congreso Latinoamericano de Parasitología Tropical y XV Congreso de Parasitología y Medicina Tropical. Biomédica. Bogotá Colombia. Octubre de 2011.
- Suárez, Y., Gaitán, X., Roa, L.A., Carranza, J.C., Vallejo, G.A.** 2012. La presencia de factores tripanolíticos en el estómago de *Rhodnius prolixus* contribuye a la transmisión selectiva de genotipos de *Trypanosoma cruzi* y *T. rangeli* en América Latina. Memorias del XLVII Congreso Nacional de Ciencias Biológicas. Santiago de Cali, Colombia, octubre de 2012.
- Suárez Y., González C.I., Díaz, M.L., Olaya, J.L., Gutiérrez, S., Carranza, J.C., Vallejo, G.A.** 2013. Análisis proteómico de diferentes especies de triatomines para identificar factores asociados a la transmisión selectiva de genotipos de *Trypanosoma cruzi* y *T. rangeli* en América Latina. Memorias del XXI Congreso de la Federación Latinoamericana de Parasitología (FLAP), Guayaquil, Ecuador. Octubre de 2013.
- Urbe, C.** 1929. Infección del *Rhodnius prolixus* Stahl por *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma rangeli*. Revista Médico-Quirúrgica de los Hospitales. Bogotá. **3** (20): 133-137.
- Urrea, D.A., Carranza, J.C., Cuba-Cuba, C.A., Gurgel-Gonçalves, R., Guhl, F., Schofield, C.J., Triana O., Vallejo, G.A.** 2005. Molecular characterisation of *Trypanosoma rangeli* strains isolated from *Rhodnius ecuadoriensis* in Perú, *R. colombiensis* in Colombia and *R. pallidus* in Panamá, supports a co-evolutionary association between parasites and vectors. Infection, Genetics and Evolution. **5** (2): 123-129.
- Urrea, D.A., Herrera, C.P., Falla, A., Carranza, J.C., Cuba-Cuba, C., Triana-Chávez, O., Grisard, E.C., Guhl, F., Vallejo, G.A.** 2011. Sequence analysis of the spliced-leader intergenic region (SL-IR) and random amplified polymorphic DNA (RAPD) of *Trypanosoma rangeli* strains isolated from *Rhodnius ecuadoriensis*, *R. colombiensis*, *R. pallidus* and *R. prolixus* suggests a degree of co-evolution between parasites and vectors. Acta Tropica. **120**: 59-66.
- Vallejo, G.A.** 1984. Diferenciación entre las formas de desarrollo de *Trypanosoma cruzi* y las formas de desarrollo de *Trypanosoma rangeli* en el intestino del vector *Rhodnius prolixus*. Tesis para optar el título de Magister en Microbiología. Universidad de los Andes de Bogotá. 335 pp.
- Vallejo, G.A., Marinkelle, C.J., Guhl, F., de Sánchez, N.** 1988. Comportamiento de la infección y diferenciación morfológica entre *Trypanosoma cruzi* y *T. rangeli* en el intestino del vector *Rhodnius prolixus*. Revista Brasileira de Biología. **48** (3): 577-587.
- Vallejo, G.A. & Marinkelle, C.J.** 1992. Estudio sobre la presencia de neuraminidasa en *Rhodnius prolixus* infectado con *Trypanosoma rangeli*. Revista Latinoamericana de Microbiología. **34**: 91-94.
- Vallejo, G.A., Guhl, F., Carranza, J.C., Lozano, L.E., Sánchez, J.L., Jaramillo, J.C., Gualtero, D., Castañeda, N., Silva, J.C., Steindel, M.** 2002. KDNA markers define two major *Trypanosoma rangeli* lineages in Latin-America. Acta Tropica. **81** (1): 77-82.
- Vallejo, G.A., Guhl, F., Carranza, J.C., Moreno, J., Triana, O., Grisard, E.** 2003. Parity between kinetoplast DNA and minixion gene sequences supports either clonal evolution or speciation in *Trypanosoma rangeli* strains isolated from *Rhodnius colombiensis*, *R. pallidus* and *R. prolixus* in Colombia. Infection, Genetics and Evolution. **3** (1): 39-45.
- Vallejo, G.A., Guhl, F., Schaub, G.A.** 2009a. Triatominae-*Trypanosoma cruzi*/*T. rangeli*: Vector-Parasite Interactions. Acta Tropica. **110**: 137-147.
- Vallejo, G.A., Guhl, F., Carranza, J.C., Herrera, C., Urrea, D.A., Falla, A., Zabala, D., Villa, L.M.** 2009b. *Trypanosoma cruzi* population variability in Colombia: Possible co-evolution in different vector species. Revista de la Sociedad Brasileira de Medicina Tropical. **42** (Suplemento II): 27-34.



**Zabala, D., Carranza, J.C., Urrea, D.A., Guhl, F., Jaramillo, N., Teixeira, M.M., Vallejo, G.A.** 2011. Respuesta inmune diferencial de triatomíneos contra *Trypanosoma cruzi* y *T. rangeli*. Rev. Asoc. Col. Cienc. Biol. (Col.). **23**: 134-143.

**Zingales, B., Andrade, S.G., Briones, M.R., Campbell, D.A., Chiari, E., Fernandes, O., Guhl, F., Lages-Silva, E., Macedo, A.M., Machado, C.R., Miles, M.A., Romanha, A.J., Sturm, N.R., Tibayrenc, M., Schijman, A.G.** 2009. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific

nomenclature: Second revision meeting recommends TcI to TcVI. Mem Inst Oswaldo Cruz **104**:1051-1054.

**Zingales, B., Miles, M.A., Campbell, D.A., Tibayrenc, M., Macedo, A.M., Teixeira, M.M., Schijman, A.G., Llewellyn, M.S., Lages-Silva, E., Machado, C.R., Andrade, S.G., Sturm, N.R.** 2012. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. Infect. Genet. Evol. **12** (2): 240-53. doi: 10.1016/j.meegid.2011.12.009.