

Artículo original

La respuesta inmune de algunas especies del género *Rhodnius* modifica la circulación de genotipos de *Trypanosoma cruzi* y *T. rangeli* en varias regiones de América Latina

The immune response of some *Rhodnius* species modifies *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* genotype circulation in several Latin American regions

✉ Gustavo Adolfo Vallejo^{1,*}, ✉ Hamilton Julián Barbosa¹, ✉ Yazmín Suarez¹,
✉ Arlid Meneses¹, ✉ Julio César Carranza¹, ✉ Daniel Alfonso Urrea¹, ✉ Felipe Guhl²,
✉ Diana Carolina Hernández^{3,4}, ✉ Juan David Ramírez^{3,5}

¹Laboratorio de Investigaciones en Parasitología Tropical (LIPT), Facultad de Ciencias, Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia

²Centro de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Tropical (CIMPAT), Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

³Centro de Investigaciones en Microbiología y Biotecnología-UR (CIMBIUR), Facultad de Ciencias Naturales, Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia

⁴Centro de Tecnología en Salud (CETESA), Innovaseq SAS, Bogotá, Colombia

⁵Molecular Microbiology Laboratory, Department of Pathology, Molecular and Cell-based Medicine, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, NY, USA

Artículo de posesión de Gustavo Adolfo Vallejo como miembro de número de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Citación: Vallejo GA, Barbosa HJ, Suarez Y, *et al.* La respuesta inmune de algunas especies del género *Rhodnius* modifica la circulación de genotipos de *Trypanosoma cruzi* y *T. rangeli* en varias regiones de América Latina. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. 47(185):765-784, octubre-diciembre de 2023. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1959>

Editor: John M. González

***Correspondencia:**

Gustavo Adolfo Vallejo;
gvallejo@ut.edu.co

Recibido: 28 de julio de 2023

Aceptado: 14 de noviembre de 2023

Publicado en línea: 11 de diciembre de 2023



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

Resumen

La respuesta inmune de los triatomíneos se expresa en la hemolinfa, la saliva y el intestino a través de los eicosanoides, el sistema profenoloxidasa, los péptidos antimicrobianos, las especies reactivas de oxígeno, las reactivas de nitrógeno y los factores de la microbiota intestinal. El género *Rhodnius*, conformado por 21 especies organizadas en tres grupos, *pallescens*, *pictipes* y *prolixus*, actúan como vectores de *Trypanosoma cruzi* y *T. rangeli* en diferentes regiones de Latinoamérica. En varios estudios se ha reportado la actividad lítica en la hemolinfa y en las glándulas salivales de *Rhodnius prolixus* y *R. robustus*, del grupo *prolixus*, contra algunos genotipos de *T. cruzi* y *T. rangeli*. Esta actividad lítica no se ha observado en las especies estudiadas de *Triatoma* y *Panstrongylus* ni en *R. pallescens*, *R. colombiensis* y *R. ecuadoriensis* del grupo *pallescens*, o *R. pictipes* del grupo *pictipes*. En estudios proteómicos de la hemolinfa y las glándulas salivales de *R. prolixus* y *R. colombiensis* se detectaron diferencias en proteínas de respuesta inmune que estarían asociadas con la actividad lítica. Esta respuesta inmune, además de los factores de la microbiota intestinal, la distribución geográfica de los vectores, y los genotipos del parásito, ha llevado a plantear la hipótesis de que el grupo *prolixus* está conformado por vectores con factores inmunes que determinan la transmisión selectiva de algunos genotipos de *T. cruzi* y *T. rangeli*, lo que ha modificado la distribución geográfica de estos parásitos en el continente americano. En esta revisión de la interacción parásito-vector, se presentan resultados publicados entre 1982 y 2023 para respaldar la hipótesis planteada.

Palabras clave: inmunidad innata; factores líticos; *Rhodnius*; *Trypanosoma cruzi*; *Trypanosoma rangeli*.

Abstract

The immune response of triatomines is represented in the hemolymph, saliva, and intestine by eicosanoids, the prophenoloxidase system, antimicrobial peptides, reactive oxygen species, reactive nitrogen species, and intestinal microbiota factors. The *Rhodnius* genus consists of 21 species organized into three groups: *pallescens*, *pictipes*, and *prolixus*, acting as vectors for *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in different Latin American regions. Various studies have reported lytic activity

in the hemolymph and salivary glands of *Rhodnius prolixus* and *R. robustus* from the prolixus group, targeting some *T. cruzi* and *T. rangeli* genotypes. Such lytic activity has not been observed in *Triatoma* and *Panstrongylus* species, in *R. pallescens*, *R. colombiensis*, and *R. ecuadoriensis* from the *R. pallescens* group, nor in *R. pictipes* from the pictipes group. Proteomic studies in *R. prolixus* and *R. colombiensis* haemolymph and salivary glands have detected differences regarding immune response proteins, strongly suggesting an association with lytic activity. Such immune response, linked to factors concerning intestinal microbiota, the vectors' geographical distribution, and the parasite's genotypes, has resulted in the hypothesis that the prolixus group consists of various vectors with immune factors that determine the selective transmission of some *T. cruzi* and *T. rangeli* genotypes and have modified the geographical distribution of these parasites in the American continent. The present review on the parasite-vector interaction was based on results reported between 1982 and 2023 that clearly support the proposed hypothesis.

Key words: Innate immunity; lytic factors; *Rhodnius*; *Trypanosoma cruzi*; *Trypanosoma rangeli*.

Introducción

La enfermedad de Chagas, causada por *T. cruzi*, se registra en 21 países americanos; se estima que hay 6 a 7 millones de personas infectadas y cerca de 12.000 muertes cada año (**World Health Organization, WHO, 2022**). La forma más común de la infección se da por transmisión vectorial cuando las heces y la orina de los triatomínicos con parásitos infectivos entran en contacto con la piel o las mucosas. La infección también puede ocurrir por transfusiones sanguíneas y trasplantes de órganos, por transmisión vertical de la madre al hijo, por infección oral al ingerir bebidas o comidas contaminadas con el parásito, y por accidentes de laboratorio (**Rassi et al., 2010; Rueda et al., 2014; Velásquez-Ortiz et al., 2022**).

Trypanosoma cruzi está dividido en seis unidades taxonómicas discretas de tipificación (*Discrete Typing Unit, DTU*), denominadas *T. cruzi* I-VI (**Zingales et al., 2009, 2012**); posteriormente se describió un séptimo grupo denominado *T. cruzi* bat (**Marcili et al., 2009**). Estas DTU tienen una amplia distribución en América, con predominio en algunas regiones; dicha distribución podría estar relacionada con la especie del triatomo, la respuesta inmune del vector y el genotipo del parásito (**Zingales et al., 2012**). Se han descrito 160 especies de insectos vectores, tres extintas y 157 vivientes, de las cuales 153 se encuentran en el continente americano y tienen la capacidad potencial de transmitir *T. cruzi* en condiciones naturales o de laboratorio (**Justi & Galvão, 2017; Galvão, 2021; Gil-Santana et al., 2022; Zhao et al., 2021, 2023**).

Cabe resaltar que *T. rangeli* no es patógeno para los mamíferos y se encuentra en infecciones mixtas con *T. cruzi* en los vertebrados y en los triatomínicos (**Guhl & Vallejo, 2003**). Se han descrito hasta ahora cinco genotipos de *T. rangeli* (A-E) (**Maia da Silva et al., 2007, 2009**) y, aunque este puede encontrarse en el intestino de muchos triatomínicos, sus vectores biológicos son las especies de *Rhodnius*, cuyas glándulas salivales invade, produciendo tripomastigotes metacíclicos que se transmiten en la saliva del insecto (**Marinkelle, 1968; Guhl & Vallejo, 2003**). Las especies del género *Rhodnius* son primariamente arborícolas asociadas con nidos de animales localizados en los huecos de los árboles y palmeras; se han clasificado en tres grupos: pallescens, pictipes y prolixus con base en su distribución geográfica, biogeografía, morfología y análisis filogenético (**Justi & Galvão, 2017; Hernández et al., 2020; Zhao et al., 2021**) (**Tabla 1**).

Tabla 1. Grupos y especies del género *Rhodnius*

Género	Grupos	Especies
<i>Rhodnius</i>	pallescens	<i>colombiensis, ecuadoriensis, pallescens</i>
	pictipes	<i>amazonensis, brethesi, paraensis, pictipes, stali, zeledoni, micki</i>
	prolixus	<i>barretti, dalessandroi, domesticus, milesi, marabaensis, montenegrensis, nasutus, neglectus, neivai, prolixus, robustus</i>

Tomado de **Justi & Galvão (2017); Hernández et al., (2020); Zhao et al., 2021**

Con el objetivo de buscar evidencias sobre el papel de la respuesta inmune de algunas especies de *Rhodnius* en la modificación de la transmisión de los parásitos, la presente revisión se propuso mostrar: i) la actividad lítica observada en especies del grupo prolixus, específicamente en las DTU de *T. cruzi*, y en los genotipos de *T. rangeli*; ii) la distribución de las DTU de *T. cruzi* aisladas de infecciones naturales en las especies de *Rhodnius*, así como en *Triatoma infestans*; iii) la distribución de los genotipos de *T. rangeli* aislados de *Rhodnius* spp, y iv) los estudios comparativos sobre los factores inmunes detectados en la hemolinfa y la saliva de *R. prolixus* (con actividad lítica) y *R. colombiensis* (sin actividad lítica) que podrían actuar contra varias DTU de *T. cruzi* y genotipos de *T. rangeli*. También se revisaron algunos reportes sobre el papel de la microbiota intestinal de los vectores que, conjuntamente con los factores líticos observados en la hemolinfa y las glándulas salivares, determinarían una transmisión selectiva de los parásitos, modificando su distribución geográfica.

Factores inmunes del vector que pueden afectar la transmisión de las DTU de *T. cruzi* y los genotipos de *T. rangeli*

En la **figura 1** se resumen los principales componentes del sistema inmune de los triatomos, el cual es considerado como un sistema innato, constituido por la interacción de componentes humorales y celulares. El componente humoral está representado por el sistema profenoloxidasa (*prophenoloxidase*, proPO), los péptidos antimicrobianos (PAM), el sistema de coagulación de la hemolinfa, las especies reactivas de oxígeno (ERO), las reactivas de nitrógeno (ERN) y los precursores lipídicos conocidos como eicosanoides. El sistema inmune celular está representado por los hemocitos, cuya función es la fagocitosis, aunque también están involucrados en la formación de la membrana basal, la reparación de heridas y la producción de los PAM, las ERN, las ERO y el proPO (Azambuja *et al.*, 2017; Salcedo-Porras & Lowenberger, 2019; Rojas-Pirela *et al.*, 2023). Estos factores humorales pueden ser secretados directamente al hemocele o lumen intestinal como componentes de la respuesta inmune para eliminar patógenos potenciales adquiridos durante la alimentación (García *et al.*, 2010a).

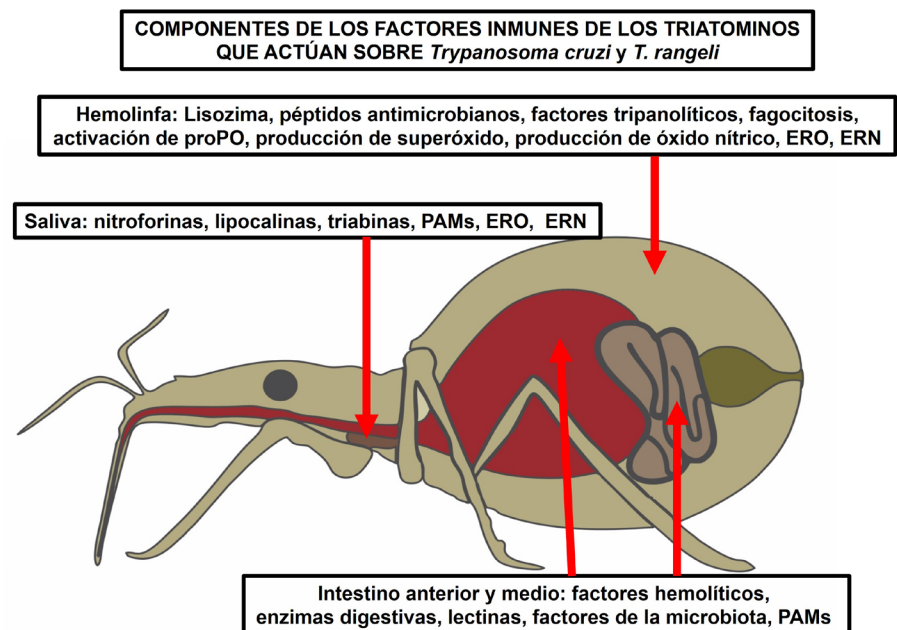


Figura 1. Factores de la respuesta inmune identificados en los triatomos. Adaptado de García *et al.* (2007) y Azambuja *et al.* (2017)

En cuanto al tiempo de respuesta, los mecanismos de inmunidad pueden actuar de dos formas: una, considerada como respuesta inducida, ocurre cuando el insecto se expone a un estímulo (infección), caso en el que los péptidos antimicrobianos actuarían como respuesta inducida, pues se ha observado que cuando el insecto se infecta con *T. cruzi* se produce en su intestino una variación en la expresión de estos PAM (Vieira *et al.*, 2016). Por otro lado, las respuestas constitutivas son mecanismos que siempre están listos a actuar, como la ruta metabólica del sistema profenoloxidasa (Zumaya-Estrada *et al.*, 2018). Las nitroforinas, las especies reactivas de oxígeno (ERO) y las especies reactivas de nitrógeno (ERN) se consideran parte de la respuesta innata constitutiva y se expresan principalmente en la hemolinfa y en la saliva.

Cuando se produce la infección de *T. cruzi* en el intestino del vector, se activan varios factores limitantes contra el parásito, incluidos factores líticos del estómago, lectinas, enzimas del intestino, compuestos antimicrobiales, óxido nítrico y factores derivados de la microbiota, como lo describen García & Azambuja (1991), Kollien & Schaub (2000) y García *et al.* (2007, 2010a, 2010b). En cuanto a la microbiota intestinal de los triatominos, esta tiene un papel importante en la regulación de la respuesta inmune contra posibles patógenos. En este sentido, Castro *et al.* (2012) observaron que cuando algunos genotipos de *T. cruzi* infectan al vector, se producen péptidos antimicrobianos que reducen la microbiota intestinal. Los autores también encontraron que cuando *R. prolixus* es infectado con *T. cruzi* Dm28c (DTU TcI) ocurre una disminución de las bacterias intestinales y el parásito se multiplica rápidamente, mientras que en la infección con la cepa Y (DTU TcII) no hay una disminución significativa de la microbiota y el parásito no se desarrolla en el intestino del vector.

Azambuja *et al.* (2004) demostraron que *Serratia marcescens* tiene actividad lítica en el intestino de *R. prolixus* contra la cepa Y (DTU TcII), pero no sobre Dm28c (DTU TcI). Vallejo *et al.* (2009b) y Kieran *et al.* (2019) confirmaron que los filos más prevalentes en la microbiota de 87 triatominos vectores fueron Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, y Proteobacteria. Aunque el conocimiento de la interacción de la microbiota intestinal con los diferentes grupos de *T. cruzi* y *T. rangeli* aún es incompleto, se espera que la descripción de los factores de la mayoría de las bacterias presentes en la microbiota de los triatominos y de su interacción con los parásitos, pueda contribuir al entendimiento de la compleja epidemiología de las dos especies, con el fin de determinar nuevas estrategias que permitan interrumpir los ciclos de transmisión de la enfermedad de Chagas.

Observaciones sobre la actividad lítica de la hemolinfa y de la saliva del grupo *prolixus* en *T. cruzi*

Las primeras observaciones fueron efectuadas por Alvarenga & Bronfen (1982), quienes inocularon las cepas Y (TcII) y CL (TcVI) en el hemocele de *Triatoma infestans* y *Dipetalogaster maxima* y encontraron que los parásitos persistieron en la hemolinfa de estos insectos hasta 40 días. En contraste, Mello *et al.* (1996) observaron una temprana y fuerte actividad lítica cuando incubaron la hemolinfa de *R. prolixus* con la cepa Y (TcII), pero no así con las cepas Dm28c (TcI) o CL después de tres horas de incubación. Estos primeros reportes en la literatura científica mostraron que la hemolinfa de *R. prolixus* presentaba factores inmunes innatos, responsables de una rápida actividad tripanolítica contra algunos genotipos de *T. cruzi*, y que esta actividad tripanolítica estaba ausente en la hemolinfa de *T. infestans* y *D. maxima*.

Buscando nuevas evidencias de esta respuesta inmune en *R. prolixus*, Suárez-Quevedo *et al.* (2020) utilizaron epimastigotes de *T. cruzi* de las DTUs I-VI, *T. cruzi* bat y *T. cruzi marinkellei* para detectar la sensibilidad o resistencia a los factores tripanolíticos en incubaciones con la hemolinfa. Los autores encontraron que después de ensayos con seis cepas de *T. cruzi* I no se observó lisis durante las primeras 14 horas de incubación, en tanto que *T. cruzi* III mostró una disminución del 13 % en el número de parásitos y no se observó actividad tripanolítica contra *T. cruzi* IV. Sin embargo, se observó una fuerte

actividad lítica contra *T. cruzi* II, V, VI, *T. cruzi* bat y *T. cruzi marinkellei*, con disminuciones del 90 al 96 % en los recuentos de parásitos vivos registrados en las primeras 14 h de incubación. Sin embargo, el resultado más intrigante del estudio de **Suárez-Quevedo et al.** (2020) fue que ninguna hemolinfa de otras especies estudiadas, como *R. pallelescens*, *R. colombiensis*, *R. pictipes*, *T. dimidiata*, *T. maculata* y *Panstrongylus geniculatus*, mostró actividad tripanolítica contra cualquiera de las DTUs de *T. cruzi* después de 24 h de incubación. Los autores demostraron que la presencia de la actividad tripanolítica de la hemolinfa de *R. prolixus* es independiente del tiempo transcurrido desde la recolección de los insectos en el campo o del transcurrido durante el mantenimiento de las colonias en el laboratorio, así como de las áreas geográficas de recolección de los vectores, del tiempo de mantenimiento de los parásitos en cultivo, del origen de la hemolinfa (adultos o ninfas) o de la fuente de alimento de los insectos (sangre de gallina o sangre de ratón). También observaron la actividad lítica contra las mismas DTU de *T. cruzi* en la hemolinfa de *R. robustus*, corroborando igual respuesta de acción rápida a la observada en la hemolinfa de *R. prolixus*. Por otro lado, **Gaitán-Veloza** (2022) demostró que la actividad lítica observada en la hemolinfa contra epimastigotes de *T. cruzi* II también actuaba contra los tripomastigotes metacíclicos de *T. cruzi* II. Además, **Barbosa et al.** (2021) reportaron la actividad lítica de la saliva de *R. prolixus* contra epimastigotes de *T. cruzi* II, pero no contra *T. cruzi* I. En resumen, esta actividad tripanolítica se ha observado en *R. prolixus* y *R. robustus*, dos representantes principales del grupo prolixus, pero no se ha observado en ninguna de las especies del grupo pallelescens ni en *R. pictipes*, la especie más representativa del grupo pictipes. No se descarta que la actividad lítica de la hemolinfa de *R. prolixus* y *R. robustus* pueda complementar el papel modulador de la microbiota intestinal en la transmisión de las DTU de *T. cruzi*.

Observaciones sobre la actividad lítica de la hemolinfa del grupo *prolixus* contra genotipos *T. rangeli*

Para responder al interrogante sobre si la actividad lítica contra *T. cruzi* también podría afectar a *T. rangeli*, en experimentos *in vitro* **Sánchez et al.** (2005) y **Pulido et al.** (2008) observaron que la hemolinfa de *R. prolixus* lisaba los epimastigotes de cultivo de cepas de *T. rangeli* del genotipo C, aisladas de glándulas salivares de *R. colombiensis*, *R. ecuadoriensis* y *R. pallelescens*. En los experimentos *in vivo* de **Sánchez et al.** (2005), se observó que al inocular el hemocele de *R. prolixus* con el genotipo C de *T. rangeli*, los parásitos en la hemolinfa desaparecieron rápidamente. En contraste, los epimastigotes de *T. rangeli* del genotipo A fueron completamente resistentes a la lisis cuando se enfrentaron con la hemolinfa de *R. prolixus*. Previamente, **Vallejo et al.** (1986) habían encontrado que al inocular el genotipo A de *T. rangeli* en el hemocele de *R. prolixus*, durante dos meses de observación los parásitos produjeron tripomastigotes metacíclicos infectivos en las glándulas salivares. Estos resultados son similares a los reportados por **Mello et al.** (1995), quienes inocularon la cepa *T. rangeli* San Agustín (genotipo A de Colombia) en el hemocele de *R. prolixus*, observando durante varios días la multiplicación del parásito con actividad de lisozima, y sin actividad lítica ni producción de péptidos antimicrobianos.

La ausencia de actividad lítica en la hemolinfa del grupo prolixus contra el genotipo A de *T. rangeli* explicaría por qué después de caracterizar 35 cepas de *T. rangeli* aisladas de glándulas salivares de *R. prolixus* en Colombia y Honduras (**Salazar-Anton et al.**, 2009), de *R. neglectus* silvestre en el Distrito Federal de Brasil (**Gurguel-Goncalves et al.**, 2004), de *R. prolixus* silvestre en Casanare, Colombia (**Urrea et al.**, 2011), y de *R. robustus* en Venezuela y Brasil, todas las cepas correspondieron al genotipo A (**Maia da Silva et al.**, 2007; **Vallejo et al.**, 2015), y ninguna glándula salival de los vectores se encontró infectada con los genotipos C o E, los cuales son sensibles a la lisis causada por la hemolinfa de *R. prolixus* y *R. robustus*, como lo reportaron **Suárez-Quevedo et al.** (2020). Estos autores tampoco encontraron actividad lítica en la hemolinfa de *R. pallelescens*, *R. colombiensis*, *R. ecuadoriensis*, *R. pictipes*, *T. dimidiata*, *T. maculata*, y *P. geniculatus* contra *T. rangeli*. Por

otro lado, **De Stefani-Marques et al.** (2006) obtuvieron resultados similares al infectar oralmente a *P. megistus*, *T. infestans*, *T. sordida*, *T. braziliensis*, y *T. vitticeps* con una cepa de *T. rangeli* aislada en Uberaba-Minas Gerais, Brasil, donde *R. neglectus* y el genotipo A son predominantes, observando que los parásitos persistieron en la hemolinfa por 10 y 30 días sin invasión de las glándulas salivares, con lo que confirmaron la ausencia de factores líticos de actividad inmediata en la hemolinfa de estos vectores. En conclusión, la actividad lítica de la hemolinfa contra los genotipos C y E de *T. rangeli* sólo se ha observado en *R. prolixus* y *R. robustus* hasta el momento.

DTU de *T. cruzi* aisladas de infecciones naturales en las especies de los grupos *pallezens*, *pictipes* y *prolixus* en diferentes regiones de América Latina

Como se señaló, varios autores han registrado actividad lítica en la hemolinfa de *R. prolixus* y *R. robustus* contra *T. cruzi* II, III, V, VI, *T. cruzi* bat y *T. cruzi marinkellei*, pero no contra *T. cruzi* I y IV. Asimismo, se ha confirmado la actividad lítica en la saliva de *R. prolixus* contra *T. cruzi* II, pero no contra *T. cruzi* I (**Suárez-Quevedo et al.**, 2020; **Barbosa**, 2021; **Gaitán-Velosa**, 2022). También se ha reportado que la microbiota intestinal de *R. prolixus* impide la transmisión de *T. cruzi* II pero no la de *T. cruzi* I (**Castro et al.**, 2012). Según esto, cuando se analizan las DTU de *T. cruzi* aisladas en las especies del grupo *prolixus*, se espera que su distribución refleje el efecto de la respuesta inmune de *R. prolixus* y *R. robustus* sobre los parásitos, de manera que predominen *T. cruzi* I y *T. cruzi* IV, y haya poca presencia de *T. cruzi* II, III, V, VI y *T. cruzi* bat. En la **tabla 2** se muestra la distribución de las DTU de *T. cruzi* detectadas en especies de

Tabla 2. Las DTU de *Trypanosoma cruzi* aisladas de especies de *Rhodnius* en diferentes regiones de América Latina

Especie	Región geográfica	TcI N (%)	TcII N (%)	TcIII N (%)	TcIV N (%)	TcV N (%)	TcVI N (%)	TcBat N (%)
<i>R. brethesi</i>	Brasil	9 (52,94)		1 (5,88)	7 (41,17)			
<i>R. colombiensis</i>	Colombia	5 (100)						
<i>R. ecuadoriensis</i>	Ecuador	62 (100)						
<i>R. neglectus</i>	Brasil	2 (66,66)	1 (3,33)					
<i>R. pallezens</i>	Colombia Costa Rica Panamá	24 (100)						
<i>R. pictipes</i>	Brasil Venezuela	71 (97,26)	2 (2,73)					
<i>R. prolixus</i>	Brasil Colombia Guatemala Venezuela	288 (97,62)			6 (2,03)		1 (0,33)	
<i>R. robustus</i>	Bolivia Colombia Brasil	24 (75)			8 (25)			
<i>R. stali</i>	Bolivia Brasil	14 (100)						
Total		499 (95,04)	3 (0,57)	1 (0,19)	21 (4)		1 (0,19)	

Fuente: **Breniere et al.**, 2016

Rhodnius en diferentes regiones de América Latina según **Breniere et al.** (2016). Se observa que en *R. prolixus* se aislaron 288 cepas de *T. cruzi* I y ninguna de *T. cruzi* II, en tanto que en *R. robustus* se aislaron 24 cepas de *T. cruzi* I, seis de *T. cruzi* IV y ninguna de *T. cruzi* II. Los resultados en *R. prolixus* y *R. robustus* muestran que no se aisló *T. cruzi* III, pero sí *T. cruzi* IV, lo que se ajusta al hecho de que la hemolinfa de estas dos especies tiene actividad lítica contra *T. cruzi* III pero no contra *T. cruzi* IV. Según **Breniere et al.** (2016), se aisló una cepa de *T. cruzi* II en la especie *R. neglectus*, en la que todavía no se ha evidenciado experimentalmente la presencia de factores líticos, y dos cepas de *T. cruzi* II en *R. pictipes*, en la que **Suárez-Quevedo et al.** (2020) no detectaron factores líticos en la hemolinfa.

Otros estudios en especies de *Rhodnius* de Colombia, Venezuela y Perú muestran que la DTU más frecuentemente detectada es *T. cruzi* I, que *T. cruzi* III y IV son poco frecuentes y que *T. cruzi* II, V y VI son de escasa circulación (**Carrasco et al.**, 2012; **Padilla et al.**, 2017; **Velásquez-Ortiz et al.**, 2022). Llama la atención que a pesar de la detección del ADN de *T. cruzi* II en el intestino de los insectos (**Vallejo et al.**, 2009a; **Guhl & Ramírez**, 2013), el aislamiento de parásitos vivos de *T. cruzi* II en Colombia y Venezuela ha sido infructuoso frente a los cientos de cepas de *T. cruzi* I aisladas. Podría ser que la circulación de *T. cruzi* II sea realmente muy escasa o que las reacciones de PCR detecten solamente ADN de parásitos no viables o muertos.

Es importante resaltar que **Breniere et al.** (2016) encontraron marcadas diferencias en la distribución de las DTU de *T. cruzi* aisladas de *T. infestans*, principal vector de *T. cruzi* en Argentina, Bolivia, Brasil y Chile, Paraguay y Perú, y de las DTU detectadas en las especies de *Rhodnius*, como puede observarse en la **tabla 3**.

Dichas diferencias podrían estar relacionadas con el hecho de que *T. infestans* no presenta factores líticos en la hemolinfa contra las cepas Y (Tc II) y CL (Tc VI), como lo observaron **Alvarenga & Bronfen** (1982). Es probable que otras especies del género *Triatoma* no posean factores tripanolíticos contra *T. cruzi*, pues **Suárez-Quevedo et al.** (2020) no detectaron factores líticos en la hemolinfa de *T. dimidiata* y *T. maculata*. Se puede observar, además, la diferencia en la circulación de *T. cruzi* II, V y VI especialmente en los países del cono sur (Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay y Perú), donde predomina *T. infestans*, siendo estas mismas DTU extremadamente escasas en los países donde circula el grupo *prolixus*.

Tabla 3. Comparación de las DTU de *Trypanosoma cruzi* detectadas en especies de *Rhodnius* y en *Triatoma infestans* en diferentes regiones de América Latina

Especie	Región geográfica	TcI	TcII	TcIII	TcIV	TcV	TcVI	TcBat	Referencia
		N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	
<i>Rhodnius</i> spp	Brasil	499	3 (0,57)	1 (019)	21 (4)		1 (0,19)		Breniere et al. (2016)
	Bolivia	(95,04)							
	Colombia								
	Costa Rica								
	Ecuador								
	Guatemala								
	Venezuela								
<i>Triatoma infestans</i>	Argentina	627	37	31	1	170	194		Breniere et al. (2016)
	Bolivia	(59,15)	(3,49)	(2,92)	(0,09)	(16,03)	(18,30)		
	Brasil								
	Chile								
	Paraguay								
	Perú								

Genotipos de *T. rangeli* aislados de infecciones naturales en las especies de los grupos *pallescens*, *pictipes* y *prolixus* en diferentes regiones de América Latina

Los primeros estudios de **D'Alessandro** (1976) mostraron que las especies de *Rhodnius* son sensibles a la infección con cepas de *T. rangeli* de la misma región geográfica, pero no así de otras regiones. Señaló, asimismo, que la mayoría de las cepas aisladas en Colombia y Venezuela se desarrollan en *R. prolixus*, con excepción de las cepas aisladas de *R. pallescens* o de *R. ecuadoriensis*, las cuales no producen infección en *R. prolixus* detectable a nivel de glándulas salivares. También demostró que las cepas de *R. prolixus* aisladas en Colombia y Costa Rica no infectaban a *R. pallescens* o *R. ecuadoriensis*. Por otro lado, **Vallejo et al.** (2002) mostraron que las cepas aisladas de *R. colombiensis* no infectaban a *R. prolixus* de Colombia. Los autores demostraron por primera vez la asociación entre especies del género *Rhodnius* y genotipos de *T. rangeli* al caracterizar los genotipos de las cepas de *R. prolixus* (especie domiciliada) y *R. colombiensis* (especie silvestre) capturados en el municipio de Coyaima, Tolima, en la región central de Colombia. Todas las cepas de *T. rangeli* aisladas de las glándulas salivares de *R. colombiensis* presentaron el genotipo C y las aisladas de *R. prolixus* el genotipo A. Estos resultados sugieren que en la naturaleza las especies de *Rhodnius* son sensibles solamente a ciertos genotipos de *T. rangeli*, por lo que el vector sería un filtro biológico de determinadas poblaciones de *T. rangeli* (**Vallejo et al.**, 2002, 2015). En la **tabla 4** se presenta un resumen de 93 cepas de *T. rangeli* aisladas de varias especies de *Rhodnius* y caracterizadas según los genotipos A, B, C, D y E.

Se considera que los factores inmunes de la hemolinfa, la saliva y la microbiota intestinal son determinantes en la transmisión de *T. rangeli* por las especies de *Rhodnius*. Sin embargo, son pocos los estudios sobre la interacción de *T. rangeli* y *Rhodnius* spp; **Suárez-Quevedo et al.** (2020) detectaron factores tripanolíticos en la hemolinfa de *R. prolixus* y *R. robustus* contra los genotipos C y E de *T. rangeli*, pero las hemolinfas de *R. pallescens*, *R. colombiensis*, *R. ecuadoriensis* y *R. pictipes* no presentaron factores tripanolíticos contra ninguno de los genotipos A a E de *T. rangeli*. En futuros estudios

Tabla 4. Distribución de genotipos de *Trypanosoma rangeli* detectados en especies de *Rhodnius*

Especie	Región geográfica	Genotipo					Referencia
		A N (%)	B N (%)	C N (%)	D N (%)	E N (%)	
<i>R. brethesi</i>	Brasil		3 (100)				Maia da Silva, et al. (2007)
<i>R. colombiensis</i>	Colombia			27 (100)			Vallejo et al. (2002, 2009a)
<i>R. ecuadoriensis</i>	Perú			3 (100)			Vallejo et al. (2002, 2009a)
<i>R. pallescens</i>	Colombia, Panamá			26 (100)			Vallejo et al. (2003, 2009a); Urrea et al. (2011)
<i>R. prolixus</i>	Colombia, Venezuela	28 (100)					Vallejo et al. (2002, 2009a); Maia da Silva et al. (2007); Urrea et al. (2011)
<i>R. robustus</i>	Brasil		6 (100)				Maia da Silva et al. (2007)

sobre los factores inmunes de la hemolinfa, las glándulas salivares y la microbiota intestinal se podría aportar nueva información para entender por qué los genotipos de *T. rangeli* son específicos para las especies de *Rhodnius*.

Estudios proteómicos de la hemolinfa de *R. prolixus* y *R. colombiensis* y su relación con la actividad lítica contra *T. cruzi* y *T. rangeli*

Con la finalidad de detectar factores inmunes contra los parásitos, **Barbosa et al.** (2021,2022) y **Barbosa** (2023) determinaron los factores de la respuesta inmune innata en la hemolinfa que estarían implicados en la actividad lítica contra *T. cruzi* y *T. rangeli*. Los autores efectuaron un análisis proteómico comparativo de la hemolinfa de *R. prolixus* (con actividad lítica) y de *R. colombiensis* (sin actividad lítica) e identificaron 120 proteínas totales en la hemolinfa de *R. prolixus* y 107 en la de *R. colombiensis*, de las cuales 40 se asociaron a la respuesta inmune (**Tabla 5**), y de estas 40, 32 eran compartidas por las dos especies, siete se detectaron sólo en la hemolinfa de *R. prolixus* (factor de von Willebrand,

Tabla 5. Proteínas de respuesta inmune detectadas en hemolinfa de *R. prolixus* y *R. colombiensis*

Proteínas	<i>R. prolixus</i>	ID Uniprot	<i>R. colombiensis</i>	ID Uniprot
Factor von Willebrand	2	A0A0P4VIB4, T11FN4	2	A0A0P4VIB4, T11FN4
Lectinas	2	A0A0P4VGP5, A0A0P4VKZ1	2	A0A0P4VGP5, A0A0P4VKZ1
Serinas con actividad endopeptidasa	2	T1H815, T1H816	2	T1H815, T1H816
Serpinas	3	A0A069DZE0, T11F83, R4FLP4	3	A0A069DZE0, T11F83, R4FLP4
Lipocalinas	3	R4FN82, R4FLZ0, A0A0P4VR25	3	R4FN82, R4FLZ0, A0A0P4VR25
Fenol oxidasa	4	T1HW22, A0A0V0G7Q5, A0A1B2G385, A0A1B2G381	4	T1HW22, A0A0V0G7Q5, A0A1B2G385, A0A1B2G381
Tripsinas	4	T1HMX6, A0A0P4VLU5, T1I2L3, T1I0A9	4	T1HMX6, A0A0P4VLU5, T1I2L3, T1I0A9
Péptidos antimicrobianos	1	B8QEI8 (prolixina)	1	B8QEI8 (prolixina)
Lisozimas	2	A0A0P4VPP9, R4FPH4	2	A0A0P4VPP9, R4FPH4
Interferón gamma inducible	2	A0A0P4VM92, R4G4A3	2	A0A0P4VM92, R4G4A3
Tiol reductasa lisosómica				
ML superfamilia	1	T1HU92	1	T1HU92
Pacifastina 4 Icmii	1	R4G3U6	1	R4G3U6
Fibrilina putativa (VWFC)	1	R4FJG3	1	R4FJG3
Inhibidor serina proteinasa-putativa	1	A0A023EZF2	1	A0A023EZF2
Proteína putativa dominio c1q	1	R4FJF3	1	R4FJF3
I-set dominio de inmunoglobulina	1	T1HT36	1	T1HT36
IG-like dominio de inmunoglobulina	1	T1I8U8	1	T1I8U8
Nitroforinas	2	Q7YT15, Q94734		
Superóxido dismutasa	1	A0A0P4VG4		
Factor von Willebrand	1	T1HG60,		
Tripsinas	1	R4G5A7		
Péptidos antimicrobianos	1	A0A0P4VLV7 (defensina)		
Lisozimas	1	A9LN32		
Inhibidor inter-alfa-tripsina de cadena pesada H4			1	A0A069DVF3

tripsina, nitroforina 4A, nitroforina-4, superóxido dismutasa, defensina y lisozima) y una proteína denominada inhibidor Inter-Alfa-tripsina de cadena pesada H4, se detectó únicamente en la hemolinfa de *R. colombiensis*. Las proteínas detectadas en *R. prolixus* constituyen una respuesta inmune innata que se da en la hemolinfa sin previo contacto con *T. cruzi* o *T. rangeli*. La exacta dinámica de circulación de estas proteínas de respuesta inmune innata todavía se desconoce, sin embargo, su posible desplazamiento desde la hemolinfa hacia el intestino contribuiría a que actuara sinérgicamente con otras proteínas de la microbiota intestinal contra algunas DTU de *T. cruzi* y algunos genotipos de *T. rangeli*, impidiendo su transmisión. Todavía no hay estudios transcriptómicos o de sobreexpresión cuantitativa que permitan identificar las proteínas compartidas en la hemolinfa que podrían estar en alza y responder por la actividad lítica observada en *R. prolixus*.

Estudios proteómicos de la saliva de *R. prolixus* y *R. colombiensis* y su relación con la actividad lítica contra *T. cruzi* y *T. rangeli*

Los estudios sobre las proteínas de la saliva de los triatomíneos se han centrado en las proteínas relacionadas con la actividad anticoagulante, antiplaquetaria y vasodilatadora que aseguran el flujo continuo de la sangre del vertebrado durante la toma del alimento. No se ha estudiado a profundidad el papel de estas proteínas para contrarrestar algunos patógenos, a pesar de que existe evidencia de su actividad antiparasitaria, antibacteriana, antiviral y antifúngica (Arcà & Ribeiro, 2018; Santiago et al., 2020). El primer reporte sobre la actividad lítica en glándulas salivares es el de Ferreira et al. (2016), quienes emplearon el contenido de las glándulas salivares de *R. prolixus* y lograron una lisis del 20 % después de la incubación con las formas tripomastigotes de *T. cruzi* (cepa CL, DTU VI).

Posteriormente, Barbosa (2023) demostró el efecto lítico de la saliva de *R. prolixus* sobre epimastigotes y tripomastigotes de *T. cruzi* II, actividad lítica que no fue detectada en la saliva de *R. colombiensis*. Estos reportes permiten plantear que las proteínas presentes en las glándulas salivares de *R. prolixus*, además de cumplir las funciones anticoagulante, antiplaquetaria y vasodilatadora, podrían afectar la infección y adaptación de algunas DTU de *T. cruzi* y genotipos de *T. rangeli*, pues parte de la saliva se ingiere en el proceso de alimentación del insecto, llega al intestino del vector e interactúa directamente con el parásito, siendo esta una respuesta inmune innata generada en las glándulas salivares que afecta a algunos genotipos de *T. cruzi* y *T. rangeli* (Amino et al., 2002; Vallejo et al., 2015; Ferreira et al., 2016).

Buscando las diferencias entre las proteínas de respuesta inmune, Barbosa (2023) realizó un análisis proteómico comparativo de las glándulas salivares de *R. prolixus* y *R. colombiensis*, e identificó un total de 1.966 proteínas en las dos especies, de las cuales 91, 66 detectadas en *R. prolixus* y 25 en *R. colombiensis*, estaban relacionadas con la respuesta inmune (Tabla 6).

De las 91 proteínas relacionadas con la respuesta inmune, 42 (46 %) sólo se detectaron en la saliva de *R. prolixus*, 48 (53 %) eran compartidas por las dos especies, y una (1 %) fue detectada exclusivamente en *R. colombiensis*. Las proteínas detectadas sólo en *R. prolixus* podrían estar relacionadas con la actividad lítica; por otro lado, las compartidas también podrían estar involucradas en la lisis, sin embargo, todavía no hay estudios transcriptómicos comparativos o de sobreexpresión cuantitativa que permitan identificar cuáles proteínas halladas en la saliva de las dos especies podrían estar en alza y responder por la actividad lítica observada en *R. prolixus*.

El hallazgo de Barbosa (2023) de un mayor número de proteínas de respuesta inmune en la saliva de *R. prolixus* podría reflejar una acusada expansión de la familia de nitroforinas, lipocalinas y triabinas, como lo han demostrado los estudios de Ribeiro et al. (2004). El análisis del genoma de *R. prolixus* de Mesquita et al. (2015) evidenció que las proteínas salivares más abundantes ocurrían en las grandes expansiones organizadas en agrupaciones en tándem, con 51 genes de lipocalinas identificados y 12 miembros no

Tabla 6. Proteínas de respuesta inmune detectadas en saliva de *R. prolixus* y *R. colombiensis*

Proteínas	<i>R. prolixus</i>	ID Uniprot	<i>R. colombiensis</i>	ID Uniprot
Nitroforinas	8	Q7YT15, Q94734 (+1), Q26241, R4FPW7, Q94733, Q26239, R4G8N0, A0A0N7Z976,	8	Q7YT15, Q94734 (+1), Q26241, R4FPW7, Q94733, Q26239, R4G8N0, A0A0N7Z976
Nitroforinas	13	AOAOP4VNYO, A0A0N7Z8Y4, R4G8M9, Q6PQK2, A0A0P4VRM1, R4G4L0, R4G800, R4G8N2, R4G8L8, A0A0P4VPI4, A0A- 0P4VMA9, A0A0P- 4VIM0, Q7YSY5		
Triabinas	6	R4G339, R4FPQ1, R4G560, A0A0P4VJD8, R4FQL0, Q7YT04,	6	R4G339, R4FPQ1, R4G560, A0A0P4VJD8, R4FQL0, Q7YT04
Triabinas	13	A0A0P4W353, R4FN02, R4G3G4, R4G3G0, R4G4H9, A0A0P4VNG9, R4FPJ5, R4FJ72, A0A0P4VSW8, R4G8L0, A0A0P4VRP3, A0A0P4VJ86, Q7YT05,		
Lipocalinas	3	R4FLF8, Q7YT09, R4G376	3	R4FLF8, Q7YT09, R4G376
Lipocalinas	15	R4FN70, R4G530, R4G426, A0A- 0P4VNM2, A0A- 0P4VJV9, R4FR52, R4FLY6, A0A0P4VU56, A0A0N7Z8D0, R4FR66, R4FPS6, A0A0N7Z954, R4G4E6, Q7YT10, A0A0V0G8M5		
Lipocalinas			1	R4G8K0
Otras *	7	R4G8R7, T111C5, A0A0N7Z8E7, B8LJ43, A0A0P4VT66, Q26240, A0A0P4VTN9	7	R4G8R7, T111C5, A0A0N7Z8E7, B8LJ43, A0A0P4VT66, Q26240, A0A0P4VTN9
Otras *	1	T11G50 (Glutación S transferasa)		

* En la categoría de otras, se detectaron la metalopeptidasa, la serina proteasa 10 putativa, la transferrina, la catalasa, el óxido nítrico sintasa, el superóxido dismutasa y la glutación transferasa.

identificados del clado de las nitroforinas. A partir del análisis de las proteínas salivares de *R. prolixus*, Santos *et al.* (2022) reportaron que podrían existir cerca de 100 lipocalinas, algunas de ellas sin función definida, y 12 nitroforinas que sí se identificaron.

Como transportadoras de óxido nítrico (NO), las nitroforinas pueden participar como agentes inmunomoduladores en la transmisión de los tripanosomas (Castro *et al.*, 2012). Por otro lado, la proporción de nitroforinas en los diferentes géneros de triatomíneos es variable, como lo demostraron Montadon *et al.* (2016), quienes al comparar las nitroforinas

detectadas en la saliva de tres especies de diferentes géneros, encontraron que en *R. prolixus* estas constituyeron el 68 % de las proteínas salivares, en tanto que en *T. lecticularia* y *P. herreri* no detectaron nitroforinas. Por otro lado, los autores encontraron un 13 %, un 79 % y un 49 % de lipocalinas en *R. prolixus*, *T. lecticularia* y *P. herrei*, respectivamente, lo que evidencia una gran biodiversidad funcional interespecífica de estas moléculas en las tres especies.

Asimismo, Santos *et al.* (2022) demostraron que la citolocalización de las nitroforinas y otras lipocalinas, además de verificarse en las glándulas salivares, también se detectaban en otros tejidos (intestino anterior, intestino posterior, ovarios, testículos, sistema nervioso central y antenas), lo cual sugiere que la inmunidad de *R. prolixus* relacionada con las nitroforinas puede ser sistémica debido a la liberación de moléculas transportadoras de NO en otros tejidos diferentes a las glándulas salivares. Estos hallazgos coinciden con los resultados de Barbosa *et al.* (2021, 2022) y Barbosa (2023), quienes detectaron nitroforinas en la hemolinfa de *R. prolixus* pero no en la de *R. colombiensis*. Es importante señalar que el análisis proteómico comparativo de la saliva de *R. prolixus* y *R. colombiensis* de Barbosa (2023) es el primer estudio de dos especies que tienen diferente actividad lítica en la saliva contra *T. cruzi* II, sin embargo, aún es necesario profundizar en la expresión de otros posibles genes implicados en dicha actividad.

Un aspecto subestimado en la inmunidad de los triatominos contra los tripanosomas es la maquinaria propia de la actividad de los radicales libres, como el ion superóxido y el óxido nítrico. La producción de estos radicales se considera parte de la inmunidad constitutiva conservada en hemípteros, como lo señalaron Zumaya *et al.* (2018) y Whitten *et al.* (2001), pues estos factores son relevantes en la defensa de los triatominos contra bacterias y parásitos. Estas moléculas tienen diferentes roles biológicos, ya que actúan en las vías de señalización de la respuesta inmune, y directamente contra microorganismos patógenos mediante la peroxidación de lípidos, ocasionando la pérdida de fluidez de la membrana. Estos factores causan daños irreversibles en las proteínas debidos a la nitración inducida por las ERN y el daño oxidativo por las ERO en aminoácidos sensibles como la cisteína y la metionina. El ADN también es propenso a la nitración y el daño oxidativo que pueden ocasionar mutaciones (Azambuja *et al.*, 2017).

En *R. prolixus* se ha descrito la participación de los radicales libres en las cascadas oxidativas en las glándulas salivales, la hemolinfa y el intestino (Figura 2). La enzima encargada de la producción de NO es el óxido nítrico sintasa (*nitric oxide synthase*, NOS), la cual cataliza la conversión de arginina en citrulina, produciendo óxido nítrico (Figura 2A). El complejo de NOS está activo en los tejidos de las glándulas salivales, la hemolinfa y el intestino del insecto (Figuras 2B, 2C, 2D). En las glándulas salivales las nitroforinas actúan como transportadoras de NO y pueden también almacenarlo. Se ha descrito el potencial de las nitroforinas como catalizadoras para la producción de NO mediante la reacción de desproporción de nitrito (Figura 2B). En la hemolinfa los hemocitos también tienen la capacidad de producir NO a través del complejo NOS (Figura 2C). En el intestino medio anterior hay una marcada actividad oxidativa mediada por las ERO, cuyo principal precursor es el ion superóxido, y por las ERN, con el NO como su precursor (Figura 2D). La activación y modulación de estas cascadas oxidativas pueden ser dependientes de la especie de tripanosomátido, de la cepa, o de la DTU de *T. cruzi* (Whitten *et al.*, 2007; Castro *et al.*, 2012; Knipp & He, 2011).

La respuesta inmune de los grupos *pallezens*, *prolixus* y *pictipes* y su relación con la genética y la filogenia del género *Rhodnius*

Suárez-Quevedo *et al.* (2020) y Zabala *et al.* (2011) reportaron que la hemolinfa de las especies del grupo *pallezens* (*R. pallezens*, *R. colombiensis* y *R. ecuadoriensis*) (Figura 3A) no producen lisis *in vitro* contra las DTU de *T. cruzi* y los genotipos de *T. rangeli*. Además, los primeros encontraron que la hemolinfa de *R. pictipes* tampoco producía lisis *in vitro* contra los mismos genotipos de *T. cruzi*; queda por estudiar la hemolinfa de las

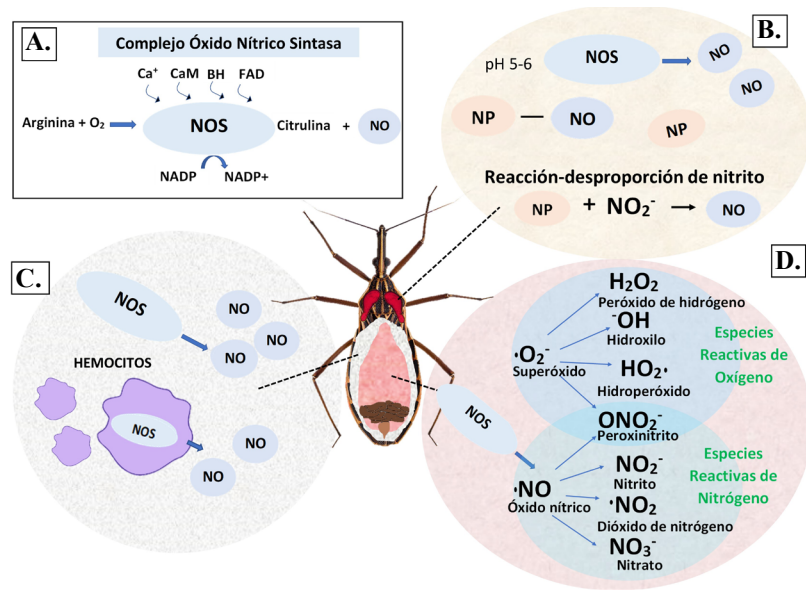


Figura 2. Actividad del sistema óxido nítrico sintasa (NOS), de especies reactivas de oxígeno (ERO) y de nitrógeno (ERN) en *R. prolixus*. **A)** Complejo de ERO para la síntesis de NO, calmodulina (CaM), tetrahidrobiopterina (BH), y dinucleótido de flavina-adenina (FAD). **B)** Rol de las nitroforinas (NP) en las glándulas salivares. **C)** Estimulación del complejo NOS en hemocitos en la hemolinfa. **D)** Especies reactivas de oxígeno y nitrógeno expresadas en el intestino medio anterior. Adaptado de Whitten *et al.*, 2007, Castro *et al.*, 2012 y Knipp, M. & He, C. (2011)

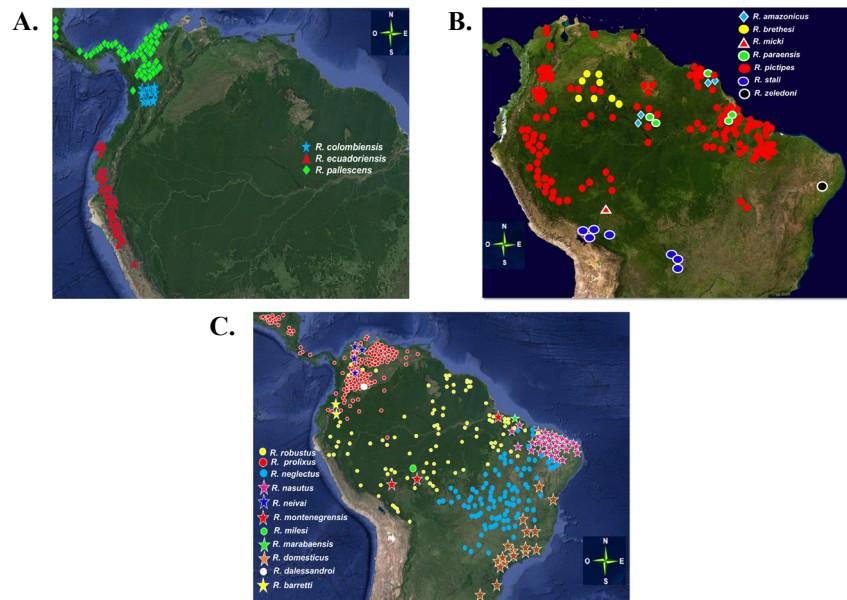


Figura 3. **A.** Distribución geográfica del grupo pallescens en Panamá, Colombia, Ecuador y Perú. Pulido *et al.* (2008) ni Suárez-Quevedo *et al.* (2020) encontraron factores tripanolíticos en la hemolinfa de las tres especies del grupo pallescens. **B.** Distribución geográfica del grupo pictipes en América del Sur. Suárez-Quevedo *et al.* (2020) examinó la hemolinfa de *R. pictipes* sin encontrar actividad tripanolítica. Será necesario estudiar la hemolinfa de las seis especies restantes para verificar la existencia de factores tripanolíticos. **C.** Distribución geográfica del grupo prolixus en Centroamérica y América del Sur. Según Suárez-Quevedo *et al.* (2020) existen factores tripanolíticos en *R. prolixus* y *R. robustus*. Será necesario estudiar las hemolinfas de las nueve especies restantes para verificar la existencia de factores tripanolíticos.

siete especies restantes del grupo pictipes para conocer si ocurre lisis *in vitro* contra los parásitos (**Figura 3B**). Por el contrario, la hemolinfa de *R. prolixus* y *R. robustus* produce lisis *in vitro* contra los genotipos de *T. cruzi*. Estas dos especies son las más abundantes del grupo prolixus, lo que sugiere que probablemente las ocho especies restantes también tengan esta respuesta inmune contra los parásitos (**Figura 3C**).

Según lo señalado, es necesario verificar la presencia de la respuesta tripanolítica contra *T. cruzi* y *T. rangeli* en todas las especies del género *Rhodnius*, lo cual sería de gran importancia porque este factor de respuesta inmune podría ayudar a aclarar las relaciones evolutivas de los tres grupos, pallescens, pictipes y prolixus, ya que en algunas reconstrucciones filogenéticas las especies del grupo prolixus forman un clado monofilético, otro clado hermano de las que integran el grupo pictipes (**Hernández et al., 2020**) y uno hermano de las que integran el grupo pallescens (**Kieran et al., 2021**). Asimismo, sería de gran interés explorar la respuesta inmune de las especies del género *Psammolestes*, ya que en algunas reconstrucciones se ha evidenciado la parafilia del grupo prolixus con respecto a *Psammolestes* (**Hernández et al., 2020**)

Consecuencias de la respuesta inmune del grupo prolixus sobre la epidemiología de *T. cruzi* y *T. rangeli*

La actividad lítica específica del grupo prolixus contra las DTU de *T. cruzi* y los genotipos de *T. rangeli* probablemente se originó por la sobreexpresión en la saliva de los genes de las nitroforinas, las lipocalinas y las triabinas, cuya principal función es transportar el óxido nítrico, pero también pueden participar en la síntesis de esta molécula (**Knipp & He, 2011**). **Barbosa (2023)** encontró nitroforina 4-A, nitroforina-4, defensina y lisozima en la hemolinfa de *R. prolixus*, lo que es importante porque el óxido nítrico procedente de las nitroforinas podría ser liberado en el intestino anterior y actuar sobre los genotipos de los parásitos sensibles al estrés oxidativo. En experimentos *in vivo* se ha evidenciado que el aumento en la producción de óxido nítrico en la hemolinfa y el tracto digestivo de *R. prolixus*, se correlaciona con la disminución de *T. cruzi*, por el contrario, cuando se disminuye la producción de óxido nítrico, el parásito logra mantenerse y multiplicarse como lo demostraron **Batista et al. (2020)**. Es probable que los parásitos que tienen resistencia a la lisis de la hemolinfa de *R. prolixus*, mantengan un repertorio de genes implicados en la tolerancia al estrés oxidativo, como lo plantearon previamente **Beltrame-Botelho et al. (2016)**.

La elevada expresión de actividad oxidativa en el grupo prolixus, mediada por una mayor presencia de proteínas como las nitroforinas, pudo haber generado una presión selectiva durante millones de años, que podría explicar la baja o escasa circulación de *T. cruzi* II, V y VI en las áreas de distribución de las especies del grupo prolixus como Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú, y gran parte de la región amazónica. Naturalmente, para comprobar esta hipótesis será necesario continuar recopilando datos sobre la actividad lítica de la hemolinfa y de las glándulas salivares en las demás especies del grupo prolixus (**Figura 3C**) y en las del grupo pictipes (**Figura 3B**), aunque en la hemolinfa del grupo pallescens no se hayan detectado factores tripanolíticos (**Figura 3A**).

Conclusiones y perspectivas

El mecanismo de defensa humoral en insectos se caracteriza por una batería de potentes péptidos antimicrobianos, intermediarios reactivos de nitrógeno y oxígeno y cascadas enzimáticas complejas como el sistema profenoloxidasas, que contribuyen a la coagulación o melanización en la hemolinfa (**García et al., 2009**). Estos factores humorales pueden ser secretados directamente al hemocele o lumen intestinal como componentes de la respuesta inmune para eliminar patógenos potenciales adquiridos durante la alimentación (**García et al., 2010a**).

Según **Mwangi et al. (2023)**, muchas preguntas sobre las interacciones triatomino-tripanosoma siguen sin respuesta, particularmente las relativas a las moléculas presentes en el tracto digestivo implicadas en la modulación de la infección parasitaria. Otras preguntas persistentes giran en torno a cómo los genes del vector y de los parásitos interactúan y

afectan la producción de superóxido, óxido nítrico y otros radicales de oxígeno y nitrógeno y, por último, cuál es el papel de los péptidos antimicrobianos y cómo estos pueden afectar la influencia y el establecimiento del parásito en el vector. Estos autores consideran que la interacción inmunitaria no se ha explorado completamente en sus dimensiones cualitativa y cuantitativa, y que podría aprovecharse incluso más en el control de la enfermedad mediante la supresión de la competencia del vector y la sensibilidad a *T. cruzi*.

Los estudios proteómicos comparativos de *R. prolixus* y *R. colombiensis* realizados por **Barbosa et al.** (2021, 2022) y **Barbosa** (2023), sugieren que los factores implicados en la actividad tripanolítica observada en *R. prolixus*, pero no en *R. colombiensis*, estarían relacionados con la presencia de nitroforinas, tripsinas, defensinas, lisozimas y el superóxido dismutasa en la hemolinfa de *R. prolixus* y la mayor producción de nitroforinas, lipocalinas y triabinas en las glándulas salivares de este vector. En las áreas geográficas donde persisten especies del grupo *prolixus*, la circulación de las DTU de *T. cruzi* o los genotipos de *T. rangeli* sensibles a los factores líticos está restringida, como se ha observado en Venezuela, Colombia, Ecuador y gran parte de la Amazonía (**Breniere et al.**, 2016; **Vallejo et al.**, 2015).

Los resultados de esta revisión abren la perspectiva de una identificación precisa en el grupo *prolixus* de estos factores que limitan la competencia vectorial de algunas DTU de *T. cruzi* y genotipos de *T. rangeli* y contribuyen a una mejor comprensión de la compleja epidemiología de *T. cruzi*, lo que permite explorar alternativas para el control de la transmisión de la enfermedad de Chagas en algunas regiones de América Latina a mediano y largo plazo.

Agradecimientos

Este trabajo está dedicado a la memoria de los doctores Cornelis Johannes Marinkelle del CIMPAT de la Universidad de los Andes de Bogotá, Hernando Groot Liévano del Instituto Nacional de Salud de Bogotá, Antonio D'Alessandro, del CIDEIM de Cali, Zigman Brener y Egler Chiari de la Universidad Federal de Minas Gerais-Brasil, con quienes el autor principal del presente artículo tuvo el privilegio de recibir formación e inspiración en el campo de la parasitología tropical, así como a los estudiantes de pregrado, maestría y doctorado que durante décadas participaron en el desarrollo de esta línea de investigación en el Laboratorio de Investigaciones en Parasitología Tropical (LIPT) de la Universidad del Tolima bajo la dirección de los coautores del artículo. Agradecemos, asimismo, a los dos evaluadores anónimos, cuyas observaciones contribuyeron a mejorar la presentación y la calidad del documento.

Contribución de los autores

G.A.V., H.J.B. y Y.S.: conceptualización, escritura y preparación de la versión original. A.M., J.C.C., D.A.U., F.G., C.H. y J.D.R.: revisión y edición del manuscrito. G.A.V. y H.J.B.: gestión de la financiación. Todos los autores leyeron y aprobaron la versión final sometida a publicación.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Referencias

- Alvarenga, N.J., Bronfen, E.** (1982). Incapacidade de evolução do *Trypanosoma cruzi* na hemocele de triatomíneos [Incapacity of the evolution of *Trypanosoma cruzi* in the hemocele of triatomids]. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 77(4), 431-6. <https://doi.org/10.1590/s0074-02761982000400010>
- Amino, R., Martins, R.M., Procopio, J., Hirata, I.Y., Juliano, M.A., Schenkman, S.** (2002). Trialysin, a novel pore-forming protein from saliva of hematophagous insects activated by limited proteolysis. *Journal of Biological Chemistry*, 277(8), 6207-13. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109874200>

- Arcà, B., Ribeiro, J.M. (2018). Saliva of hematophagous insects: a multifaceted toolkit. *Current Opinion in Insect Science*, 29, 102-109. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.07.012>
- Azambuja, P., Feder, D., Garcia, E.S. (2004). Isolation of *Serratia marcescens* in the midgut of *Rhodnius prolixus*: impact on the establishment of the parasite *Trypanosoma cruzi* in the vector. *Experimental Parasitology*, 107, 89-96. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2004.04.007>
- Azambuja, P., Garcia, E.S., Waniek, P.J., Vieira, C.S., Figueiredo, M.B., Gonzalez, M.S., Mello, C.B., Castro, D.P., Ratcliffe, N.A. (2017). *Rhodnius prolixus*: from physiology by Wigglesworth to recent studies of immune system modulation by *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*. *Journal of Insect Physiology*, 97, 45-65. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.11.006>
- Batista, K.K.D.S., Vieira, C.S., Florentino, E.B., Caruso, K.F.B., Teixeira, P.T.P., Moraes, C.D.S., Genta, F.A., de Azambuja, P., de Castro, D. P. (2020). Nitric oxide effects on *Rhodnius prolixus*'s immune responses, gut microbiota and *Trypanosoma cruzi* development. *Journal of Insect Physiology*, 126, 104100. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2020.104100>
- Barbosa, H.J., Suárez, J., Meneses, A., Carranza, J.C., Vallejo, G.A. (2021). Análisis proteómico de la hemolinfa y las glándulas salivares en triatomínicos con capacidad lítica contra *Trypanosoma rangeli* y *Trypanosoma cruzi*. IX Congreso Internacional de Parasitología Neotropical COPANEO, 2021. (PDF) IX Congreso Internacional de Parasitología Neotropical, COPANEO 2021 Libro de resúmenes. (researchgate.net), 64
- Barbosa Vinasco, H. J., Meneses, A., Suárez Quevedo, Y., Mario Ospina, C., Carranza, J.C., Vallejo, G.A. (2022). Identification of innate immune or biochemical factors in triatomines with lytic capacity against *Trypanosoma rangeli* and *Trypanosoma cruzi*. *Revista Actualidades Biológicas*, 44, 34.
- Barbosa, H.J. (2023). Factores inmunes innatos en triatomínicos asociados con actividad lítica contra algunas cepas de *Trypanosoma cruzi*. Tesis para optar el título de Doctor en Ciencias Biomédicas. Universidad del Tolima. 135 pp.
- Beltrame-Botelho, I.T., Talavera-López, C., Andersson, B., Grisard, E.C., Stoco, P.H. (2016). A Comparative *In Silico* Study of the Antioxidant Defense Gene Repertoire of Distinct Lifestyle Trypanosomatid Species. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 12, 263-275. <https://doi.org/10.4137/EBO.S40648>
- Brenière, S.F., Walecx, E., Barnabé, C. (2016). Over Six Thousand *Trypanosoma cruzi* Strains Classified into Discrete Typing Units (DTUs): Attempt at an Inventory. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(8), e0004792. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004792>
- Carrasco, H.J., Segovia, M., Llewellyn, M.S., Morocoima, A., Urdaneta-Morales, S., Martínez, C., Martínez, C.E., Garcia, C., Rodríguez, M., Espinosa, R., de Noya, B.A., Díaz-Bello, Z., Herrera, L., Fitzpatrick, S., Yeo, M., Miles, M.A., Feliciangeli, M.D. (2012). Geographical distribution of *Trypanosoma cruzi* genotypes in Venezuela. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6(6), e1707. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001707>
- Castro, D.P., Moraes, C.S., Gonzalez, M.S., Ratcliffe, N.A., Azambuja, P., Garcia, 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. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036591>
- D'Alessandro, A. (1976). Biology of *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli* Tejera, 1920. In WHR Lumsden & DA Evans (editors), *Biology of Kinetoplastida. Vol 1* (327-349) Academic Press, London, New York and San Francisco.
- 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 and Zoonotic Diseases*, 6(1), 50-56. <https://doi.org/10.1089/vbz.2006.6.50>
- Ferreira, R. C., Kessler, R. L., Lorenzo, M. G., Paim, R. M. M., Ferreira, L. D. L., Probst, C. M., Alves-Silva, J., Guarneri, A. A. (2016). Colonization of *Rhodnius prolixus* gut by *Trypanosoma cruzi* involves an extensive parasite killing. *Parasitology*, 143(4), 434-443. <https://doi.org/10.1017/S0031182015001857>
- Gaitán-Velosa, G.A. (2022). Efecto de los factores líticos de la hemolinfa de *Rhodnius prolixus* y *Rhodnius colombiensis* contra las formas tripomastigotas metacíclicas de *Trypanosoma cruzi* (DTUs I y II). Tesis para optar el título de Biólogo. 110 pp. Universidad del Tolima.
- Galvão, C. (2021). Taxonomy. In: Guarneri, A., Lorenzo, M. (Eds) Triatominae – The Biology of Chagas Disease Vectors, *Entomology in Focus* 5. Springer, Cham, 15-38. https://doi.org/10.1007/978-3-030-64548-9_2

- Garcia, E.S., Azambuja, P.** (1991). Development and interactions of *Trypanosoma cruzi* within the insect vector. *Parasitology Today*, 7(9), 240-244. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(91\)90237-i](https://doi.org/10.1016/0169-4758(91)90237-i)
- Garcia, E.S., Ratcliffe, N.A., Whitten, M.M., Gonzalez, M.S., Azambuja, P.** (2007). Exploring the role of insect host factors in the dynamics of *Trypanosoma cruzi*-*Rhodnius prolixus* interactions. *Journal of Insect Physiology*, 53(1), 11-21. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2006.10.006>
- 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*. *Parasites & Vectors* 2, 1-10. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-2-33/FIGURES/5>.
- Garcia, E.S., Castro, D.P., Figueiredo, M.B., Azambuja, P.** (2010a). Immune homeostasis to microorganisms in the guts of triatomines (Reduviidae): a review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 105(5), 605-610.
- Garcia, E.S., Genta, F.A., Azambuja, P., Schaub, G.A.** (2010b). Interactions between intestinal compounds of triatomines and *Trypanosoma cruzi*. *Trends in Parasitology*, 26(10), 499-505. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2010.07.003>
- Gil-Santana, H.R., Chavez, T., Pita, S., Panzera, F., Galvão, C.** (2022). *Panstrongylus noireaudi*, a remarkable new species of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) from Bolivia. *Zookeys*, 1104, 203-225. <https://doi.org/10.3897/zookeys.1104.81879>
- Guhl, F., Vallejo, G.A.** (2003). *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli* Tejera, 1920: An updated review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98(4), 435-442. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762003000400001>
- Guhl, F., Ramírez, J.D.** (2013). Retrospective molecular integrated epidemiology of Chagas disease in Colombia. *Infection Genetics and Evolution*, 20, 148-54. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.08.028>
- Gurgel-Gonçalves, R., Ramalho, E.D., Duarte, M.A., Palma, A.R., Abad-Franch, F., Carranza, J.C., Cuba Cuba, C.A.** (2004). Enzootic transmission of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Federal District of Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 46(6), 323-30. <https://doi.org/10.1590/s0036-46652004000600005>
- Hernández, C., da Rosa, J.A., Vallejo, G.A., Guhl, F., Ramírez, J.D.** (2020). Taxonomy, Evolution, and Biogeography of the Rhodniini Tribe (Hemiptera: Reduviidae). *Diversity*, 12, 97. <https://doi.org/10.3390/d12030097>
- Justi, S.A., Galvão, C.** (2017). The Evolutionary Origin of Diversity in Chagas Disease Vectors. *Trends in Parasitology*, 33(1), 42-52. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2016.11.002>
- Kieran, T.J., Arnold, K.M.H., Thomas, J.C., Varian, C.P., Saldaña, A., Calzada, J.E., Glenn, T.C., Gottdenker, N.L.** (2019). Regional biogeography of microbiota composition in the Chagas disease vector *Rhodnius pallescens*. *Parasites & Vectors*, 12(1), 504. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3761-8>
- Knipp, M., He, C.** (2011). Nitrophorins: Nitrite disproportionation reaction and other novel functionalities of insect heme-based nitric oxide transport proteins. *IUBMB Life*, 63(5), 304-312. <https://doi.org/10.1002/iub.451>
- Kollien, A.H., Schaub, G.A.** (2000). The development of *Trypanosoma cruzi* in triatominae. *Parasitology Today*, 16(9):381-387. [https://doi.org/10.1016/s0169-4758\(00\)01724-5](https://doi.org/10.1016/s0169-4758(00)01724-5)
- 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. *Molecular Ecology* 16(16), 3361-3373. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03371.x>
- 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 Tropica* 109(3), 199-207. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.11.005>
- Marcili, A., Lima, L., Cavazzana, M., Junqueira, A.C., Veludo, H.H., Maia Da Silva, F., Campaner, M., Paiva, F., Nunes, V.L., Teixeira, M.M.** (2009). A new genotype of *Trypanosoma cruzi* associated with bats evidenced by phylogenetic analyses using SSU rDNA, cytochrome b and Histone H2B genes and genotyping based on ITS1 rDNA. *Parasitology*, 136(6), 641-55. <https://doi.org/10.1017/S0031182009005861>
- Marinkelle, C.J.** (1968). Pathogenicity of *Trypanosoma rangeli* for *Rhodnius prolixus* Stal in nature. *Journal of Medical Entomology*, 5(4), 497- 499. <https://doi.org/10.1093/jmedent/5.4.497>

- Mello, C.B., García, E.S., Ratcliffe, N.A., Azambuja, P. (1995). *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*: Interplay with hemolymph components of *Rhodnius prolixus*. *Journal of Invertebrate Pathology* 65(3), 261-8. <https://doi.org/10.1006/jipa.1995.1040>
- 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*. *Experimental Parasitology*, 82(2), 112-121. <https://doi.org/10.1006/expr.1996.0015>
- Montandon, C.E., Barros, E., Vidigal, P.M., Mendes, M.T., Anhê, A.C., de Oliveira Ramos, H.J., de Oliveira, C.J., Mafra, C. (2016). Comparative proteomic analysis of the saliva of the *Rhodnius prolixus*, *Triatoma lecticularia* and *Panstrongylus herreri* triatomines reveals a high interspecific functional biodiversity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 71, 83-90. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2016.02.009>
- Mesquita, R.D., Vionette-Amaral, R.J., Lowenberger, C., Rivera-Pomar, R., Monteiro, F.A., Minx, P., Spieth, J., Carvalho, A.B., Panzera, F., Lawson, D., Torres, A.Q., Ribeiro, J.M., Sorgine, M.H., Waterhouse, R.M., Montague, M.J., Abad-Franch, F., Alves-Bezerra, M., Amaral, L.R., Araujo, H.M., ...Oliveira, P.L. (2015). Genome of *Rhodnius prolixus*, an insect vector of Chagas disease, reveals unique adaptations to hematophagy and parasite infection. *Proceedings of National Academy of Sciences U S A.*, 112(48), 14936-14941. <https://doi.org/10.1073/pnas.1506226112>.
- Mwangi, V.I., Martinez, E.G., Leda, R.L., Catunda, M.E.S.L.A., Días, A.S., Padron, Antonio. Y., Guerra, M.D.G.V.B. (2023). Resisting an invasion: A review of the triatomine vector (Kissing bug) defense strategies against a *Trypanosoma* sp infection. *Acta Tropica*. 238, 106745. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106745>
- Padilla, C.P., Alvarado, U., Ventura, G., Luna-Caijo D., Suárez M., Tuñoque, J.R., Ruelas-Llerena, N., Fachin, L.A., Huiza, A., Gonzales, L., Carranza, J.C., Vallejo, G.A., Cáceres, A.G. (2017). Identificación de unidades de tipificación discretas (DTU) de *Trypanosoma cruzi* en triatomines colectados en diferentes regiones naturales del Perú. *Biomédica*, 37 (Suplemento 2), 167-179. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3559>
- 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. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 103(2), 172-9. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762008000200008>
- Rassi Jr, A., Rassi, A., & Marin-Neto, J. A. (2010). Chagas disease. *The Lancet*, 375(9723), 1388-1402. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60061-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60061-X)
- Ribeiro, J.M., Andersen, J., Silva-Neto, M.A., Pham, V.M., Garfield, M.K., Valenzuela, J.G. (2004). Exploring the sialome of the blood-sucking bug *Rhodnius prolixus*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 34(1):61-79. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2003.09.004>
- Rojas-Pirela, M., Kemmerling, U., Quiñones, W., Michels, P.A.M., Rojas, V. (2023). Antimicrobial Peptides (AMPs): Potential Therapeutic Strategy against Trypanosomiasis? *Biomolecules*, 13(4), 599. <https://doi.org/10.3390/biom13040599>
- Rueda, K., Trujillo, J.E., Carranza, J.C., Vallejo, G.A. (2014). Transmisión oral de *Trypanosoma cruzi*: una nueva situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en Colombia y otros países suramericanos. *Biomédica*, 34(4), 631-41. <https://doi.org/10.1590/S0120-41572014000400017>
- 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. pallescens* allopatric distribution in Central America. *Infection Genetics and Evolution*, 9(6),1306-10. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2009.09.002>
- Salcedo-Porrás, N., Lowenberger, C. (2019). The innate immune system of kissing bugs, vectors of chagas disease. *Developmental and Comparative Immunology*, 98,119-128. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2019.04.007>
- Sánchez, I.P., Pulido, X.C., Carranza, J.C., Triana, O., Vallejo, G.A. (2005). Inmunidad Natural de *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) frente a la infección con *Trypanosoma* (*Herpetosoma*) *rangeli* KP1(-) aislados de *Rhodnius pallescens*, *R. colombiensis* y *R. ecuadoriensis*. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*, 17, 108-118.
- Santiago, P. B., de Araújo, C. N., Charneau, S., Praça, Y. R., Bastos, I. M., Ribeiro, J. M., & Santana, J. M. (2020). The pharmacopeia within triatomine salivary glands. *Trends in Parasitology*, 36(3), 250-265. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.12.014>

- Santos, D.V., Gontijo, N.F., Pessoa, G.C.D., Sant'Anna, M.R.V., Araujo, R.N., Pereira, M.H., Koerich, L.B.** (2022). An updated catalog of lipocalins of the chagas disease vector *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 146, 103797. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2022.103797>
- Suárez-Quevedo, Y., Barbosa-Vinasco, H.J., Gutiérrez-Garnizo, S.A., Olaya-Morales, J.L., Zabala-González, D., Carranza-Martínez, J.C., Guhl-Nannetti, F., Cantillo-Barraza, O., Vallejo, G.A.** (2020). Innate trypanolytic factors in triatomine hemolymph against *Trypanosoma rangeli* and *T. cruzi*: A comparative study in eight Chagas disease vectors. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 44(170), 88-104. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1097>
- 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. pallescens* and *R. prolixus* suggests a degree of co-evolution between parasites and vectors. *Acta Tropica*, 120(1-2), 59-66. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2011.05.016>
- Vallejo, G.A., Marinkelle C.J., Guhl F., de Sánchez, N.** (1986). Mantenimiento en el laboratorio de *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli* Tejera, 1920. *Revista de Biología Tropical*, 34(1), 75-81
- Vallejo, G.A., Guhl, F., Carranza, J.C., Lozano, L.E., Sanchez, 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, 77-82. [https://doi.org/10.1016/s0001-706x\(01\)00186-3](https://doi.org/10.1016/s0001-706x(01)00186-3)
- Vallejo, G.A., Guhl, F., Carranza, J.C., Herrera, C., Urrea, D.A., Falla, A., Zabala, D., Villa, L.M.** (2009a). *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.
- Vallejo, G.A., Guhl, F., Schaub, G.A.** (2009b). Triatominae-*Trypanosoma cruzi*/*T. rangeli*: vector-parasite interactions. *Acta Tropica*, 110(2-3), 137-147. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.10.001>
- Vallejo, G.A., Suárez, Y., Olaya, J.L., Gutiérrez, S.A., Carranza, J.C.** (2015). *Trypanosoma rangeli*: un protozoo infectivo y no patógeno para el humano que contribuye al entendimiento de la transmisión vectorial and la infección por *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 39(150), 111-122.
- Velásquez-Ortiz, N., Hernández, C., Cantillo-Barraza, O., Ballesteros, N., Cruz-Saavedra, L., Herrera, G., Buitrago, L.S., Soto, H., Medina, M., Palacio, J., González, M.S., Cuervo, A., Vallejo, G.A., Zuleta Dueñas, L., Urbano, P., Muñoz, M., Ramírez, J.D.** (2022). *Trypanosoma cruzi* Parasite Burdens of Several Triatomine Species in Colombia. *Tropical Medicine and Infectious Disease* 7(12), 445. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed7120445>
- Vieira, C. S., Waniek, P. J., Castro, D. P., Mattos, D. P., Moreira, O. C., & Azambuja, P.** (2016). Impact of *Trypanosoma cruzi* on antimicrobial peptide gene expression and activity in the fat body and midgut of *Rhodnius prolixus*. *Parasites & vectors*, 9, 119. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1398-4>
- Whitten, M.M.A., Mello, C.B., Gomes, S.A.O., Nigam, Y., Azambuja, P., Garcia, E.S., Ratcliffe, N.A.** (2001). Role of superoxide and reactive nitrogen intermediates in *Rhodnius prolixus* (Reduviidae)/*Trypanosoma rangeli* interactions. *Experimental Parasitology*. 98, 44-57. <https://doi.org/10.1006/expr.2001.4615>.
- Whitten, M., Sun, F., Tew, I., Schaub, G., Soukou, C., Nappi, A., Ratcliffe, N.** (2007). Differential modulation of *Rhodnius prolixus* nitric oxide activities following challenge with *Trypanosoma rangeli*, *T. cruzi* and bacterial cell wall components. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 37, 440-452. <https://doi.org/10.1016/J.IBMB.2007.02.001>.
- WHO** (2022). Chagas disease (also known as American trypanosomiasis). Disponible en [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)). Recuperado el 8 de febrero de 2023.
- 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*. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas* (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. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(7), 1051-1054. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762009000700021>
- 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. *Infection, Genetics and Evolution*, 12 (2), 240-53. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.12.009>
- Zhao, Y., Galvão, C., Cai, W.** (2021). *Rhodnius micki*, a new species of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) from Bolivia. *ZooKeys*, 1012, 71-93. <https://doi.org/10.3897/zookeys.1012.54779>
- Zhao, Y., Fan, M., Li, H., Cai, W.** (2023). Review of Kissing Bugs (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) from China with Descriptions of Two New Species. *Insects*, 14(5), 450. <https://doi.org/10.3390/insects14050450>
- Zumaya-Estrada, F. A., Martínez-Barnette, J., Lavore, A., Rivera-Pomar, R., Rodríguez, M. H.** (2018). Comparative genomics analysis of triatomines reveals common first line and inducible immunity-related genes and the absence of Imd canonical components among hemimetabolous arthropods. *Parasites & vectors*, 11(1), 48. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2561-2>