



Revista Española de Salud Pública

ISSN: 1135-5727

resp@msc.es

Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e  
Igualdad  
España

Guhl, Felipe

EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE TRYPANOSOMA CRUZI

Revista Española de Salud Pública, marzo, 2013, pp. 1-8

Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad

Madrid, España

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=17027695001>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

**PONENCIA****EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE *TRYPANOSOMA CRUZI*****Felipe Guhl**

Centro de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Tropical. CIMPAT. Universidad de los Andes. Bogotá. Colombia.

**RESUMEN**

La enfermedad de Chagas causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* es una zoonosis compleja, ampliamente distribuida en el continente americano. La infección puede ser adquirida a través de las heces de insectos triatomíneos, transfusión de sangre, trasplante de órganos, vía oral, por transmisión congénita y por accidentes de laboratorio. El completo entendimiento de la etiología y epidemiología de la enfermedad de Chagas a través de su distribución geográfica es complejo y permanece bajo intensa investigación hasta la actualidad. Los recientes estudios sobre la variabilidad genética del parásito han dado nuevas luces de los diferentes escenarios de los ciclos de transmisión de la enfermedad y su patogénesis en humanos. El propósito principal para la caracterización molecular de *T. cruzi* y sus múltiples genotipos está dirigido hacia su asociación con la clínica y la patogénesis de la enfermedad, así como al esclarecimiento de los diferentes escenarios de transmisión y los aspectos co-evolutivos relacionados con reservorios e insectos vectores.

La caracterización molecular de los diferentes aislamientos a partir de humanos, insectos y reservorios, ha permitido identificar la amplia variabilidad genética del parásito, abriendo nuevos caminos hacia la búsqueda de nuevos blancos terapéuticos y pruebas diagnósticas más específicas que contribuyan a mitigar la enfermedad de Chagas.

**Palabras clave:** *Trypanosoma cruzi*. Patogénesis. ciclos de transmisión. Enfermedades transmisibles. Enfermedades parasitarias.

**Correspondencia**

Centro de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Tropical. CIMPAT.  
Universidad de los Andes  
Bogotá  
Colombia.  
fguhl@uniandes.edu.co

**ABSTRACT****Molecular Epidemiology of  
*Trypanosoma cruzi***

Chagas disease caused by the parasite *Trypanosoma cruzi* is a complex zoonosis that is widely distributed throughout the American continent. The infection can be acquired by triatomine faeces, blood transfusion, organ transplantation, oral route, congenital transmission and by laboratory accidents. A full understanding of the etiology and epidemiology of Chagas disease across its geographical distribution was to prove elusive and complex, and remains under intense investigation to the present day. Recent studies on the genetic variability of the parasite have given new light on the different scenarios of the cycles of transmission of Chagas disease and pathogenesis in humans. The main purpose for the molecular characterization of *T. cruzi* and their multiple genotypes is aimed towards its association with the clinic and the pathogenesis of the disease as well as to clarify the different scenarios of transmission and co-evolutionary aspects related with insect vectors and reservoirs.

The molecular characterization of the different isolates from humans, insects and reservoirs has allowed to identify the wide genetic variability of the parasite, opening new paths towards the search for new therapeutic targets and diagnostic tests more specific, that contribute to mitigate Chagas disease.

**Key words:** *Trypanosoma cruzi*. Transmission cycles. Communicable diseases. Parasitic diseases.

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas, causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, es una zoonosis compleja, ampliamente distribuida en el continente americano. La infección puede ser adquirida a través de las heces de insectos triatominos, transfusión de sangre, trasplante de órganos, vía oral, transmisión congénita y por accidentes de laboratorio.

La enfermedad de Chagas representa un problema importante de salud pública, con estimaciones de al menos de 8 a 10 millones de personas que padecen la infección y alrededor de 110 millones en riesgo de adquirirla<sup>1</sup>. La migración de personas infectadas de países endémicos a otras regiones, incluyendo Europa y Estados Unidos, hace que la enfermedad de Chagas se convierta en un problema de salud de amplia distribución geográfica, según lo demuestran recientes informes de casos importados en Europa, Estados Unidos y Canadá<sup>2,3</sup>.

La patogénesis de la enfermedad de Chagas comprende dos etapas en las que la fase aguda se produce una semana después de la infección inicial. Aproximadamente el 30-40% de los pacientes infectados desarrollan la fase crónica de la enfermedad, durante la que la cardiomiopatía es la manifestación clínica más frecuente y grave, seguida por casos de megavisceras en cerca de un 8% de los pacientes infectados<sup>4</sup>.

El completo entendimiento de la etiología y epidemiología de la enfermedad de Chagas a través de su distribución geográfica es complejo y permanece bajo intensa investigación hasta la actualidad. La dificultad de definir completamente los diferentes escenarios de los ciclos de transmisión de la enfermedad es atribuible a varios factores. En primer lugar, la enfermedad de Chagas es una zoonosis no erradicable, con más de 100 especies de mamíferos silvestres y domésticos actuando como reservo-

rios de *T. cruzi*. El segundo factor que contribuye a la complejidad de la enfermedad de Chagas es la enorme variedad de insectos triatominos involucrados en la transmisión del parásito. El tercero es la enorme variabilidad de las manifestaciones clínicas de la enfermedad y, en algunos casos, la resistencia del parásito a los medicamentos disponibles.

Durante los últimos 40 años se ha realizado un importante trabajo para dilucidar la variabilidad de *T. cruzi* con respecto a su distribución geográfica y su asociación con diferentes especies de triatominos, reservorios y los seres humanos. El parásito comprende una población heterogénea que muestra propagación clonal. Se ha reportado intercambio genético y de recombinación en estudios *in vitro* y en la naturaleza<sup>5-7</sup>.

## ANTECEDENTES

La diversidad genética fue descubierta inicialmente mediante un panel de isoenzimas utilizado en poblaciones de *T. cruzi* aisladas en diferentes ecotopos<sup>8</sup>. Este estudio pionero reveló diferencias genéticas sustanciales entre los parásitos en ciclos de transmisión silvestre y doméstica simpátricas en Brasil. Las variantes descritas fueron designadas como zymodemas I, II y III y abrieron la puerta a la investigación sobre la etiología y los ciclos de transmisión de la enfermedad de Chagas, permitiendo estudios comparativos y la influencia de las asociaciones huésped-parásito-vector.

En las dos décadas siguientes, varios autores procedieron a caracterizar aislamientos del parásito aplicando otros métodos moleculares como RAPD's, PCR-RFLPs, secuenciación de genes y microsatélites, entre otros. Como resultado, se reportó una importante variabilidad genética en los diferentes aislamientos del parásito y a su vez se generó una gran confusión en la denominación de los diferentes gru-

pos propuestos. En el año 1999 se estableció por primera vez un consenso internacional sobre la nomenclatura de *T. cruzi*<sup>9</sup> y se acordó la inclusión de dos linajes genéticos diferentes, el linaje TcI como un grupo genético homogéneo y el TcII revelado por los estudios de isoenzimas y dimorfismos en el gen mini-exón y el dominio divergente del ADNr del parásito<sup>10,11</sup>.

### LA NUEVA NOMENCLATURA

Recientemente se ha propuesto una nueva nomenclatura para *T. cruzi*, la cual incluye seis unidades discretas de tipificación (DTUs) nombradas como *T. cruzi* I (TcI), *T. cruzi* II (TcII), *T. cruzi* III (TcIII), *T. cruzi* IV (TcIV), *T. cruzi* V (TcV) y *T. cruzi* VI (TcVI), basada en marcadores moleculares diferentes y características biológicas<sup>12</sup>.

De igual manera, recientemente se ha reportado un nuevo genotipo con el nombre TcBat, con una asociación estricta a los

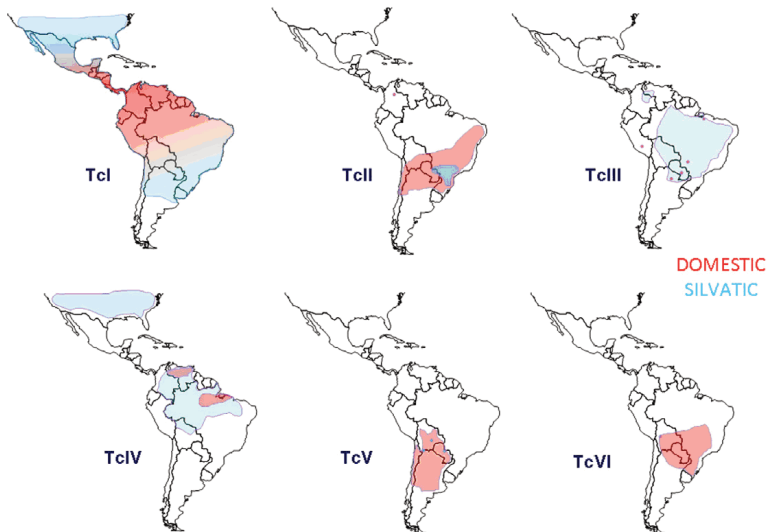
murciélagos en Brasil y Panamá<sup>13</sup>, el cual tiene connotaciones evolutivas del parásito de gran interés.

La figura 1 muestra la distribución geográfica de las 6 DTU's y su correspondencia con ciclos de transmisión asociados al ambiente silvestre o domiciliar.

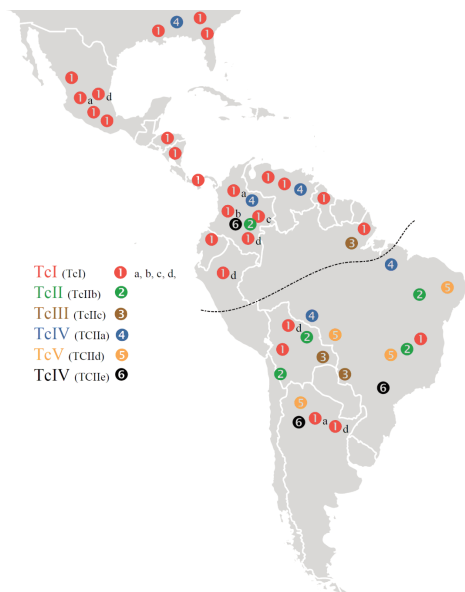
Después de diez años de investigación enfocados a comprobar si TcI era un grupo homogéneo, varios marcadores moleculares han demostrado la existencia de una enorme variabilidad genética dentro de *T. cruzi* I<sup>15-25</sup> (figura 2).

En el año 2007 se reportó la presencia de cuatro genotipos en aislamientos colombianos de TcI y su relación con los ciclos de transmisión de la enfermedad de Chagas<sup>16,18</sup>. El genotipo Ia asociado con infección humana y vectores domiciliarios con un patrón específico en la posición 28 y en la 35-40, el genotipo Ib asociado con infección humana y vectores peridomiciliarios

**Figura 1**  
**Distribución geográfica de las 6 DTU's y su correspondencia con ciclos de transmisión asociados al ambiente silvestre o domiciliar**



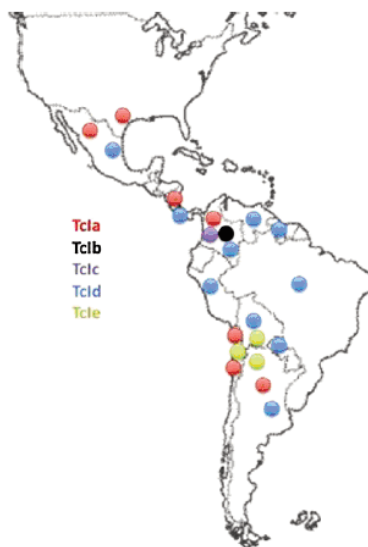
**Figura 2**  
**Distribución geográfica de las DTU's de**  
*Trypanosoma cruzi* **en el Continente**  
**Americano. Tomado de Patterson y**  
**Guhl, 2010<sup>29</sup>**



con una sustitución de T-C en la posición 44, el genotipo Ic el cual no es muy robusto debido al bajo número de aislamientos utilizados relacionado con vectores domiciliarios y que se caracteriza por una secuencia TATATA en la posición 35-40 y el genotipo Id relacionado con el ciclo selvático y caracterizado por una delección de 9 nucleótidos en las posiciones 15-23 de la región microsatélite del gen mini-exón. De acuerdo a las características de cada genotipo y a las inserciones, delecciones y SNPs encontrados para cada uno, se desarrollaron iniciadores específicos que permitieron diferenciar tres de los cuatro genotipos (Ia, Ib y Id)<sup>18</sup>. Estos trabajos fueron pioneros en el estudio de la diversidad genética del grupo TcI e instaron a la comunidad científica a continuar los trabajos utilizando otros marcadores moleculares para corroborar la existencia de los genotipos encontrados en TcI con el gen mini-exón. Trabajos posteriores utilizando el gen citocromo b mostraron la

presencia de cuatro genotipos filogenéticamente robustos en Colombia y dos subgrupos en Chile<sup>25</sup>. En el año 2009 Llewellyn et al.<sup>19</sup> reportaron 135 muestras caracterizadas como TcI procedentes de diversas regiones geográficas endémicas para enfermedad de Chagas en Latinoamérica. Las muestras fueron sometidas a análisis de 48 microsatélites marcadores demostrando que el grupo TcI era altamente diverso (figura 3). Recientemente, se analizaron 105 muestras TcI procedentes de la mayoría de regiones endémicas de Latinoamérica en las que se corroboraron los genotipos Ia, Ib, Ic y Id previamente reportados y se reportó el genotipo Ie encontrado en Bolivia, Argentina y Chile, caracterizado por tener un motivo de 44 pb en la región intergénica del gen mini-exón y para el cual se diseñaron iniciadores específicos para su detección. Así mismo, se encontró que este genotipo está muy relacionado con los ciclos domésticos de Argentina y Bolivia y los ciclos selváticos de Chile, donde *Mepraia spinolai* y *M. gajardoi* juegan un papel importante en este ciclo de transmisión<sup>26</sup>.

**Figura 3**  
**Distribución geográfica de los genotipos**  
**de Trypanosoma cruzi I basados en la**  
**región SL-IR. Tomado de Guhl et al. 2011<sup>25</sup>**



## VARIABILIDAD GENÉTICA Y ASOCIACIÓN CON RESERVORIOS Y VECTORES

La distribución de los genotipos de *T. cruzi* y los reservorios tiene una implicación importante en las divisiones de TcI. En el sur del continente se ha asociado la infección de *Canis familiaris* a TcIV, V y VI, pero en el norte se observan los perros infectados con los genotipos Ia y Ib. Así mismo, un número significativo de *D. marsupialis* en Colombia se ha encontrado infectado con el genotipo TcId, mostrando la asociación neta al ciclo selvático de transmisión. Estudios similares en primates demuestran la predominancia de TcI por infectar reservorios arbóreos. Existen varias hipótesis acerca de la distribución de los diferentes grupos genéticos de *T. cruzi*, en las que se muestra que los reservorios que pertenecen a los ecotopos arbóreos son infectados preferencialmente con TcI mientras que los terrestres son infectados por TcII-TcVI<sup>26</sup>. Esta hipótesis es controvertida teniendo en cuenta los últimos reportes que muestran que reservorios de ecotopos arbóreos como *Monodelphis brevicaudata*, *Philander frenata* y *Didelphis aurita* están respectivamente infectados con TcIII, TcIV y TcII<sup>14</sup>.

Las asociaciones no parecen ser absolutas. Para el caso de TcI no parece existir un único grupo asociado a *Didelphis*, como se había planteado originalmente. Los resultados indican agrupamientos más ligados a la distribución geográfica que a una asociación a los diferentes reservorios.

Dos estudios recientes relacionados con la infección artificial y la respuesta del huésped a diferentes cepas de *T. cruzi* muestran que dos especies de marsupiales, *Monodelphis domestica* y *Didelphis virginiana* fueron resistentes a la infección con TcIV<sup>32</sup>.

La fuerte asociación entre TcI y las diferentes especies del género *Rhodnius* se

puede explicar a través de mecanismos similares. Algunos estudios utilizando diferentes especies de triatomíneos tales como *R. pallens*, *Triatoma dimidiata*, *R. colombiensis* y *Panstrongylus geniculatus* mostraron afinidad a la infección con TcI en comparación con TcII<sup>33</sup>. Esta acción de filtro biológico parece estar modulada por el efecto de los simbiontes intestinales en los triatomíneos, los cuales juegan un papel muy importante en la metaciclogénesis del parásito.

## PATOGÉNESIS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS Y LAS DTU

El propósito principal para la caracterización molecular de *T. cruzi* debe estar dirigido hacia su asociación con la clínica y la patogénesis de la enfermedad así como al esclarecimiento de los diferentes escenarios de transmisión.

El estudio de la epidemiología molecular de *T. cruzi* ha permitido establecer el posible efecto de las diferentes DTUs en el desarrollo clínico de la enfermedad de Chagas.

Varios autores han demostrado la presencia de diferentes poblaciones de *T. cruzi* en la sangre y en el tejido cardíaco de pacientes con enfermedad de Chagas, sugiriendo que los genotipos de *T. cruzi* que causan el daño celular son diferentes a los que se encuentran en sangre. Asimismo, se han encontrado diferencias en las poblaciones de *T. cruzi* en individuos que sufren cardiomiopatía chagásica y en aquellos que no la sufren. Análisis de microsatélites han demostrado multiclonalidad en muestras de corazón y de torrente sanguíneo de pacientes infectados demostrando que probablemente poblaciones específicas de *T. cruzi* pueden determinar el desarrollo de la enfermedad<sup>27</sup>.

Varios reportes demuestran el efecto de la variabilidad genética en la respuesta inmune del hospedador. Se conocía que las formas cardíacas en países del Cono Sur en Suramérica eran causadas por TcII, TcV y

TcVI, pero recientemente se ha demostrado que TcI juega un papel importante en las formas severas de cardiopatía chagásica. Estudios en pacientes argentinos mostraron en las biopsias cardiacas que aquellos que tenían miocarditis severa estaban infectados con TcI mientras que las miocarditis moderadas o ausentes eran causadas por TcII, TcV y TcVI. En el caso de los genotipos TcI, los pacientes con cardiopatía chagásica crónica presentaban TcIa con mayor frecuencia en torrente sanguíneo, mientras que en biopsia cardiaca era frecuente encontrar TcId. Estos resultados concuerdan con los de pacientes colombianos en los que el genotipo de TcI más frecuente en pacientes adultos con cardiopatía chagásica crónica fue TcIa y con menos frecuencia TcId<sup>28</sup>, lo cual sugiere un posible histotropismo por parte de los genotipos de TcI y la importancia para los países del sur, donde se pensaba que las formas cardiacas eran causadas principalmente por TcII, TcV y TcVI.

Las implicaciones de estos estudios en el desarrollo de las formas clínicas de la enfermedad de Chagas son de gran importancia y sugieren la necesidad de adelantar nuevas investigaciones ecofilogeográficas mediante otros marcadores moleculares, con el fin de implementar estrategias dirigidas a mitigar la enfermedad de Chagas en el continente.

Existen varios reportes que muestran algoritmos que permiten caracterizar las diferentes DTU's utilizando RAPDs, PCR-RFLPs, qPCR, MLST, MLMT y secuenciación de ADN, pero hasta la fecha no existe un protocolo de consenso para la tipificación de los aislamientos.

Los avances en procedimientos de secuenciación han permitido obtener tres genomas completos. El primero fue la cepa CL Brener (TcVI), la cual mostró un alto grado de elementos repetitivos a lo largo del genoma<sup>30</sup>. De igual forma, los genomas de Esmeraldo (TcII) y Sylvio X10 (TcI) mostraron una relación entre los elementos repetitivos y las proteínas mucin-like, aso-

ciadas con la invasión celular del parásito, lo cual representa datos promisorios para un mejor entendimiento de la estructura genética de las diferentes DTU's<sup>31</sup>.

## BIBLIOGRAFÍA

1. WHO. Special programme for research and training in tropical diseases (TDR), Report of Scientific Group in Chagas Disease TDR/SWG/09. World Health Organization: Buenos Aires;2007.
2. Schmunis GA, Yadon ZE. Chagas disease: A Latin American health problem becoming a world health problem. *Acta Trop*. 2010; 115:14-21.
3. Roca C, Pinazo MJ, López-Chejade P, Bayó J, Posada E, López-Solana J, Gállego M, Portús M, Gascón J. Chagas disease among the latin american adult population attending in a primary care center in Barcelona, Spain. *PLoS Neg Trop Dis*. 2011; 5:e1135.
4. Rassi A Jr, Rassi A, Marcondes de Rezende J. American Trypanosomiasis (Chagas Disease) *Infect Dis Clin North Am*. 2012; 26: 275-291.
5. Gaunt MW, Yeo M, Frame IA, Stothard JR, Carrasco HJ, Taylor MC, et al. Mechanism of genetic exchange in American trypanosomes. *Nature*. 2003; 421: 936-939.
6. Souto RP, Fernandes O, Macedo AM, Campbell DA, Zingales B. DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasitol*. 2006; 83: 141-152.
7. Westenberger SJ, Barnabé C, Campbell DA, Sturm NR. Two hybridization events define the population structure of *Trypanosoma cruzi*. *Genetics*. 2005; 171: 527-543.
8. Miles MA, Toye PJ, Oswald SC, Godfrey DG. The identification by isoenzyme patterns of two distinct strain-groups of *Trypanosoma cruzi*, circulating independently in a rural area of Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1977; 71: 217-225.
9. Recommendations from a satellite meeting. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1999; 94: 429-432.
10. Tibayrenc M, Ayala F. Isoenzyme variability in *Trypanosoma cruzi* the agent of Chagas disease: genetical, taxonomical and epidemiological significance. *Evolution*. 1988; 42: 277-292.
11. Souto RP, Fernandes O, Macedo AM, Campbell DA, Zingales B. DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasitol*. 1996; 83: 141-152.



12. Zingales B, Andrade SG, Briones MRS, Campbell DA, Chiari E, et al. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intra-specific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009; 104: 1051-1054.
13. Marcili A, Lima L, Valente VC, Valente SA, Batista JS, et al. Comparative phylogeography of *Trypanosoma cruzi* TcIIc: New hosts, association with terrestrial ecotopes and spatial clustering. Inf Gen Evol. 2009; 9:1265-1274.
14. Llewellyn MS, Lewis MD, Acosta N, Yeo M, Carrasco HJ, et al. *Trypanosoma cruzi* IIc: Phylogenetic and phylogeographic insights from sequence and microsatellite analysis and potential impact on emergent Chagas disease. PLoS Negl Trop Dis. 2009; 3: e510.
15. Herrera C, Bargues MD, Fajardo A, Montilla M, Triana O, et al. Identifying four *Trypanosoma cruzi* I isolate haplotypes from different geographic regions in Colombia. Infect Genet Evol. 2007; 7: 535-539.
16. Herrera C, Guhl F, Falla A, Fajardo A, Montilla M, et al. Genetic variability and phylogenetic relationships within *Trypanosoma cruzi* I isolated in Colombia based on minixon gene sequences. J Parasitol Res. 2009; ID 897364.
17. Herrera CP, Guhl F, Falla A., Bargues MD, Breniere F. Concordancia de haplotipos propuestos de *Trypanosoma cruzi* con aislamientos de otras regiones de Latinoamérica. Biomédica. 2009; 29:1.
18. Falla A, Herrera C, Fajardo A, Montilla M, Vallejo GA, et al. Haplotype identification within *Trypanosoma cruzi* I in Colombian isolates from several reservoirs, vectors and humans. Acta Trop. 2009; 110: 15-21.
19. Llewellyn MS, Miles MA, Carrasco HJ, Lewis MD, Yeo M, et al. Genome-Scale Multilocus Microsatellite Typing of *Trypanosoma cruzi* Discrete Typing Unit I reveals phylogeographic structure and specific genotypes linked to human infection. PLoS Pathog. 2009; 5: e1000410.
20. Mejía-Jaramillo AM, Arboleda-Sánchez S, Rodríguez IB, Cura C, Salazar A, Del Mazo J, et al. Geographical clustering of *Trypanosoma cruzi* I groups from Colombia revealed by low-stringency single specific primer-PCR of the intergenic regions of spliced-leader genes. Parasitol Res. 2009; 104: 399-410.
21. Salazar A, Schijman AG, Triana O. High variability of Colombian *Trypanosoma cruzi* lineage I stocks as revealed by low-stringency single primer-PCR minicircle signatures. Acta Trop. 2006; 100: 110-118.
22. Spotorno AE, Córdova L, Solari A. Differentiation of *Trypanosoma cruzi* I subgroups through characterization of cytochrome b gene sequences. Infect Genet Evol. 2008; 8: 898-900.
23. Triana O, Ortiz S, Dujardin JC, Solari A. *Trypanosoma cruzi*; Variability of stocks from Colombia determined by molecular karyotype and minicircle southern blot analysis. Exp Parasitol. 2006; 113: 62-66.
24. Ramírez JD, Duque MC, Guhl F. Phylogenetic reconstruction based on Cytochrome b (Cytb) gene sequences reveals distinct genotypes within Colombian *Trypanosoma cruzi* I populations. Acta Trop. 2011; 119: 61-65.
25. Guhl F, Ramírez JD. *Trypanosoma cruzi* I diversity: Towards the need of genetic subdivision? Acta Trop. 2011; 119:1-4.
26. Yeo M, Acosta N, Llewellyn M, Sánchez H, Adamson S, et al. Origins of Chagas disease: *Didelphis* species are natural hosts of *Trypanosoma cruzi* I and armadillos hosts of *Trypanosoma cruzi* II, including hybrids. Int J Parasitol. 2005; 35: 225-233.
27. Burgos JM, Diez M, Vigliano C, Bisio M, Rizzo M, et al. Molecular identification of *Trypanosoma cruzi* Discrete Typing Units in end-stage chronic Chagas heart disease and reactivation after heart transplantation. Clin Infect Dis. 2010; 51: 485-495.
28. Ramírez JD, Guhl F, Rendón LM, Rosas F, Marín-Neto J A, Morillo C A. Chagas Cardiomyopathy Manifestations and *Trypanosoma cruzi* Genotypes Circulating in Chronic Chagasic Patients. PLoS Neg Trop Dis. 2010; 4: e899.
29. Patterson James S, Guhl F. Geographical distribution of Chagas disease. In: American Trypanosomiasis. Tibayrenc M, Editor. Oxford: Elsevier; 2010. p. 84-115.
30. Teixeira SM, El-Sayed NM, Araújo PR. The Genome and Its Implications. Adv Parasitol. 2011; 75: 209-230.
31. Andersson, B. The *Trypanosoma cruzi* genome; conserved core genes and extremely variable surface molecule families. Res Microbiol. 2011; 162: 619-625.
32. Roellig DM, Ellis AE, Yabsley MJ. Genetically different isolates of *Trypanosoma cruzi* elicit different infection dynamics in raccoons (*Procyon lotor*) and Virginia opossums (*Didelphis virginiana*). Int J Parasitol. 2009; 39: 1603-1610.



33. Urrea A, Guhl F, Herrera C, Falla A, Carranza JC, Cuba-Cuba C, et al. Sequence analysis of 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 Trop.* 2011; 20: 59-66.