

ARTÍCULO ORIGINAL

Detección de unidades discretas de tipificación de *Trypanosoma cruzi* en triatomíneos recolectados en diferentes regiones naturales de Perú

Carlos P. Padilla¹, Uriel Alvarado², Gladis Ventura¹, Deysi Luna-Caipo³, Marcial Suárez⁴, José R. Tuñoque⁵, Nancy Ruelas-Llerena⁶, Luis A. Fachin⁷, Alina Huiza⁸, Lizandro Gonzales⁹, Julio César Carranza², Gustavo Adolfo Vallejo², Abraham G. Cáceres^{10,11,12}

- ¹ Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular, Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú
² Laboratorio de Investigaciones en Parasitología Tropical, Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia
³ Dirección Subregional de Salud de Cutervo, DIRESA Cajamarca, Cajamarca, Perú
⁴ Laboratorio de Entomología, Laboratorio de Referencia Regional de la Dirección de la Red de Salud Bagua, DIRESA Amazonas, Amazonas, Perú
⁵ Área de Vigilancia y Control Vectorial, Unidad de Salud Ambiental, Dirección de la Red de Salud de Utcubamba, DIRESA Amazonas, Amazonas, Perú
⁶ Departamento de Microbiología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional San Agustín, Arequipa, Perú
⁷ Laboratorio de Entomología, Laboratorio de Referencia Regional de Salud Pública, DIRESA Ucayali, Ucayali, Perú
⁸ Instituto de Medicina Tropical "Daniel A. Carrión", Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú
⁹ Área de Entomología, Laboratorio de Referencia Regional de Amazonas, DIRESA Amazonas, Amazonas, Perú
¹⁰ Laboratorio de Entomología, Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú
¹¹ Sección de Entomología, Instituto de Medicina Tropical "Daniel A. Carrión" Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú
¹² Departamento Académico de Microbiología Médica, Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

Introducción. *Trypanosoma cruzi* se ha dividido en seis unidades taxonómicas discretas (*Discreet Typing Units*, DTU) denominadas TcI, TcII, TcIII, TcIV, TcV y TcVI. Aún se desconocen los factores determinantes de la dinámica de la transmisión vectorial de los genotipos de *T. cruzi* en las diferentes regiones geográficas de distribución de la enfermedad de Chagas en Perú.

Objetivo. Detectar y tipificar las unidades taxonómicas discretas de *T. cruzi* en las heces de siete especies de triatomíneos (*Panstrongylus chinai*, *P. geniculatus*, *P. herreri*, *Rhodnius robustus*, *R. pictipes*, *Triatoma carrioni* y *T. infestans*), capturados en ocho departamentos de diferentes regiones naturales de Perú.

Materiales y métodos. Se examinaron 197 insectos para la detección de tripanosomas. Se extrajo el ADN del contenido intestinal de cada insecto y se amplificó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de los genes *kDNA*, *SL-IR*, *24Sa rRNA* y *18Sa rRNA* para detectar las DTU de *T. cruzi*.

Resultados. Se detectaron cinco infecciones con *T. rangeli* y 113 con *T. cruzi*. De estas últimas, fue posible identificar 95 de TcI (dos en *P. chinai*, una en *P. geniculatus*, 68 en *P. herreri*, cuatro en *R. pictipes*, siete en *R. robustus*, una en *T. carrioni*, y 12 en *T. infestans*); cinco de TcII (cuatro en *P. herreri*, una en *T. infestans*); cuatro de TcIII (tres en *P. herreri*, una en *R. robustus*) y cuatro infecciones de TcIV en *P. herreri*.

Conclusión. Este es el primer trabajo de caracterización a gran escala de *T. cruzi* en el intestino de vectores de importancia epidemiológica en Perú, orientado a generar información básica que permita entender la dinámica de la transmisión vectorial de *T. cruzi* en esta región del continente.

Palabras clave: *Trypanosoma cruzi*; *Trypanosoma rangeli*; Triatominae; genotipo; Perú.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3559>

Contribución de los autores:

Carlos P. Padilla y Uriel Alvarado: procesamiento de muestras, detección molecular de las unidades discretas de tipificación y análisis de datos

Julio César Carranza: mantenimiento de las unidades discretas de tipificación de referencia

Gladis Ventura: procesamiento de muestras

Deysi Luna-Caipo, Marcial Suárez, José R. Tuñoque-Valdera, Luis A. Fachin y Lizandro Gonzales: captura de triatomíneos e interacción con las personas de las diversas localidades de estudio

Nancy Ruelas-Llerena: trabajo de laboratorio, captura e identificación de triatomíneos, interacción con las personas de las diversas localidades de estudio de las provincias de Arequipa

Alina Huiza: trabajo de laboratorio e identificación de triatomíneos

Gustavo Adolfo Vallejo y Abraham G. Cáceres: diseño del proyecto y análisis de datos

Abraham G. Cáceres: captura e identificación de triatomíneos

Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

Identifying *Trypanosoma cruzi* discrete typing units in triatomines collected in different natural regions of Perú

Introduction: *Trypanosoma cruzi* has been divided by international consensus into six discrete typing units (DTU): TcI, TcII, TcIII, TcIV, TcV y TcVI. The factors determining the dynamics of *T. cruzi* genotypes vector transmission of Chagas' disease in the different geographical regions of Perú are still unknown.

Objective: To detect and type *T. cruzi* DTUs from the faeces of seven species of triatomines (*Panstrongylus chinai*, *P. geniculatus*, *P. herreri*, *Rhodnius robustus*, *R. pictipes*, *Triatoma carrioni* and *T. infestans*) captured in eight departments from different natural regions of Perú.

Materials and methods: We examined 197 insects for detecting trypanosomes. DNA was extracted from each insect intestinal contents and PCR amplification of kDNA, SL-IR, 24Ss rRNA and 18Ss RNA was performed for detecting *T. cruzi* DTUs.

Results: Five *T. rangeli* and 113 *T. cruzi* infections were detected; 95 of the latter were identified as TcI (two in *P. chinai*, one in *P. geniculatus*, 68 in *P. herreri*, four in *R. pictipes*, seven in *R. robustus*, one in *T. carrioni*, 12 in *T. infestans*), five as TcII (four in *P. herreri*, one in *T. infestans*), four as TcIII (three in *P. herreri*, one in *R. robustus*) and four TcIV infections in *P. herreri*.

Conclusions: This is the first study which has attempted a large-scale characterization of *T. cruzi* found in the intestine of epidemiologically important vectors in Perú, thus providing basic information that will facilitate a better understanding of the dynamics of *T. cruzi* vector transmission in Perú.

Key words: *Trypanosoma cruzi*; *Trypanosoma rangeli*; Triatominae; genotype; triatomines; Perú.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3559>

La enfermedad de Chagas es una zoonosis causada por *Trypanosoma cruzi* presente en 22 países de Latinoamérica, donde se estima que alrededor de ocho millones de personas están infectadas y 25 millones viven en áreas de riesgo (1). La transmisión de *T. cruzi* ocurre principalmente mediante la transmisión vectorial por contacto de las heces contaminadas de los triatomines con el huésped. Otras formas de transmisión se presentan por transfusión de sangre contaminada, trasplante de órganos infectados, transmisión congénita, accidentes de laboratorio y por vía oral debida a la ingestión de alimentos contaminados con heces del vector (1,2). *Trypanosoma cruzi* ha sido dividido en seis unidades discretas de tipificación (*Discrete Typing Units*, DTU): TcI, TcII, TcIII, TcIV, TcV y TcVI (3,4). Además, se han descrito nuevos genotipos como el Tc Bat, asociado con murciélagos en Brasil, Panamá y Colombia (5-8).

Se ha observado una distribución geográfica heterogénea de estos genotipos, así, por ejemplo, la TcI se ha detectado predominantemente en humanos, reservorios y vectores en Centroamérica, Colombia y Venezuela, en tanto que la TcII, la TcV y la TcVI son más comunes en los países del Cono Sur del

continente americano (9-11). Al parecer, es posible encontrar todos los genotipos a lo largo del continente americano, pero con predominio de algunos de ellos en diferentes regiones geográficas. Pocas correlaciones se han observado entre la distribución de las DTU de *T. cruzi* y las características clínicas de la enfermedad (12,13). Asimismo, se han observado diferencias en la distribución de los genotipos de *T. cruzi* en los reservorios domésticos, por ejemplo, los perros en la región norte de América se han encontrado infectados predominantemente con TcI y, en el sur del continente, con TcIV, TcV y TcVI (14). Con relación a los reservorios silvestres, se ha observado que la mayoría de los *Didelphis marsupialis* y los reservorios arbóreos se encuentran infectados con TcI (15). Por ello, se ha planteado la hipótesis de que los reservorios arbóreos estarían infectados con TcI y los reservorios terrestres con las unidades TcII a TcVI (16). Sin embargo, se han encontrado varios reservorios arbóreos, como *Monodelphis brevicaudata*, *Philander frenatus* y *Didelphis aurita*, infectados con TcII, TcIV y TcII, respectivamente (5,10).

En cuanto a los genotipos de *T. cruzi* aislados de triatomines, en varios estudios se ha demostrado la asociación de genotipos de *T. cruzi* en algunas especies de vectores, por ejemplo, se ha encontrado predominancia de TcI en el intestino de *Rhodnius prolixus*, *R. colombiensis* y *R. pallens* en vectores domésticos y silvestres en Colombia, con prevalencias de 2,1 a 78,6 % (17). Además, se ha observado que la TcI se encuentra asociada a los ciclos domésticos y silvestres en Colombia,

Correspondencia:

Abraham G. Cáceres, Laboratorio de Entomología, Instituto Nacional de Salud, Calle Capac Yupanqui N° 1400, Jesús María, Lima, Perú

Teléfono: (051) 748 1111, anexo 1548

acaceres31@hotmail.com; agcl2011@gmail.com

Recibido: 18/08/16; aceptado: 18/08/17

Venezuela y en algunos países de Centroamérica, y a los ciclos selváticos en la Amazonia, en tanto que TcII, TcV y TcVI se han relacionado con ciclos domiciliarios en los países del Cono Sur de Suramérica. Los linajes TcIII y TcIV son los más raros, y se han relacionado con la transmisión selvática, con pocos reportes de infección en humanos (18).

A pesar de los estudios sobre la epidemiología molecular de *T. cruzi*, aún existen varios interrogantes sobre los factores que determinan la dinámica de transmisión de los genotipos de *T. cruzi* en las diferentes regiones endémicas de la enfermedad de Chagas. Asimismo, en los estudios sobre la interacción entre parásito y vector se ha señalado la presencia de factores de la respuesta inmunitaria del insecto (19) o de la microbiota intestinal, que estarían facilitando o impidiendo la transmisión de los genotipos de *T. cruzi* (20,21).

En Perú, se han documentado casos de enfermedad de Chagas en varias localidades de los departamentos de Arequipa, Moquegua, Madre de Dios, Lambayeque, Ica, Tacna, Ucayali, Loreto, San Martín, Cajamarca, Pasco y Amazonas (22). En un estudio sobre seroprevalencia de *T. cruzi* en humanos, perros y cobayos, se encontraron porcentajes de 14,9 % (IC_{95%} 12,2-18,0), 19,8 % (IC_{95%} 12,7-28,7) y 3,3 % (IC_{95%} 1,4-6,9), respectivamente (23).

Se han descrito 18 especies de triatomíneos en Perú, de las cuales *Triatoma infestans*, *T. carrioni*, *Panstrongylus herreri*, *P. chinai*, *P. geniculatus* y *R. ecuadoriensis* están involucradas en la transmisión de *T. cruzi* (24-29). En este país, son escasos los estudios sobre caracterización molecular de los tripanosomas detectados en triatomíneos; por esta razón, el propósito del presente estudio fue detectar y tipificar las DTU de *T. cruzi* en las heces de siete especies de triatomíneos capturados en ocho departamentos localizados en diferentes regiones naturales de Perú. Se decidió por la detección y caracterización directa de los tripanosomas presentes en las heces para evitar la selección de cepas o DTU cuando los parásitos se llevan a medios de cultivo o se aíslan en animales de laboratorio (30).

Este es el primer estudio de caracterización a gran escala de *T. cruzi* en el intestino de vectores de importancia epidemiológica en Perú con el propósito de generar información básica que permita entender la dinámica de la transmisión vectorial de *T. cruzi* en esta región del continente.

Materiales y métodos

Material entomológico

Las capturas de los triatomíneos se hicieron entre 1995 y 2014 en el interior de las viviendas de áreas urbanas y rurales de ocho departamentos de Perú (Amazonas, Arequipa, Cajamarca, Lambayeque, San Martín, Pasco, Piura y Ucayali), ubicadas en las regiones naturales de Costa, Sierra y Selva (figura 1).

La búsqueda de los triatomíneos se hizo entre las 08:30 y las 19:00 horas; el tiempo de recolección en cada vivienda fue de 15 a 20 minutos y, para ello, se emplearon linterna de mano, vaso recolector y pinzas de 20 cm de largo.

En grietas, agujeros y hendiduras de las paredes internas de los dormitorios y de la cocina, el comedor y el cuero, se recolectaron ejemplares adultos vivos y muertos, así como huevos, ninfas y exuvias en el caso de *P. herreri*.

Los ejemplares vivos (adultos y ninfas) se colocaron en vasos recolectores rotulados, recubiertos con papel filtro plegable en su interior; los huevos se pusieron en otros vasos rotulados con una porción de algodón en su interior y, los ejemplares muertos, en frascos pequeños con etanol al 90 %. El material se llevó al Laboratorio de Entomología del Instituto Nacional de Salud y a la Sección de Entomología del Instituto de Medicina Tropical "Daniel A. Carrión" de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. La identificación de las especies se confirmó mediante claves taxonómicas (25,31).

Detección molecular de las DTU de *T. cruzi*

A partir del contenido intestinal de cada triatomíneo, se extrajo el ADN utilizando el estuche comercial PureLink Genomic DNA minikit® (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Para confirmar la presencia de ADN de *T. cruzi*, se utilizó una PCR convencional con los iniciadores S35/S36, previamente documentados (32).

Las muestras positivas se procesaron para determinar el genotipo de *T. cruzi* mediante el protocolo reportado por Brisse, *et al.* (33): se hizo primero una PCR dirigida a la región del gen miniexón (34) para diferenciar la TcI (350 pb) del subgrupo de las TcII, TcV y TcVI (300 pb); la TcIII y la TcIV no generan ningún producto. Luego se hizo otra PCR para la región 24Sa rRNA, cuyos productos son la TcV (110 pb), la TcII y la TcVI (125 pb), la TcIII (110 pb) y la TcIV (120, 125 130 pb). Por último,

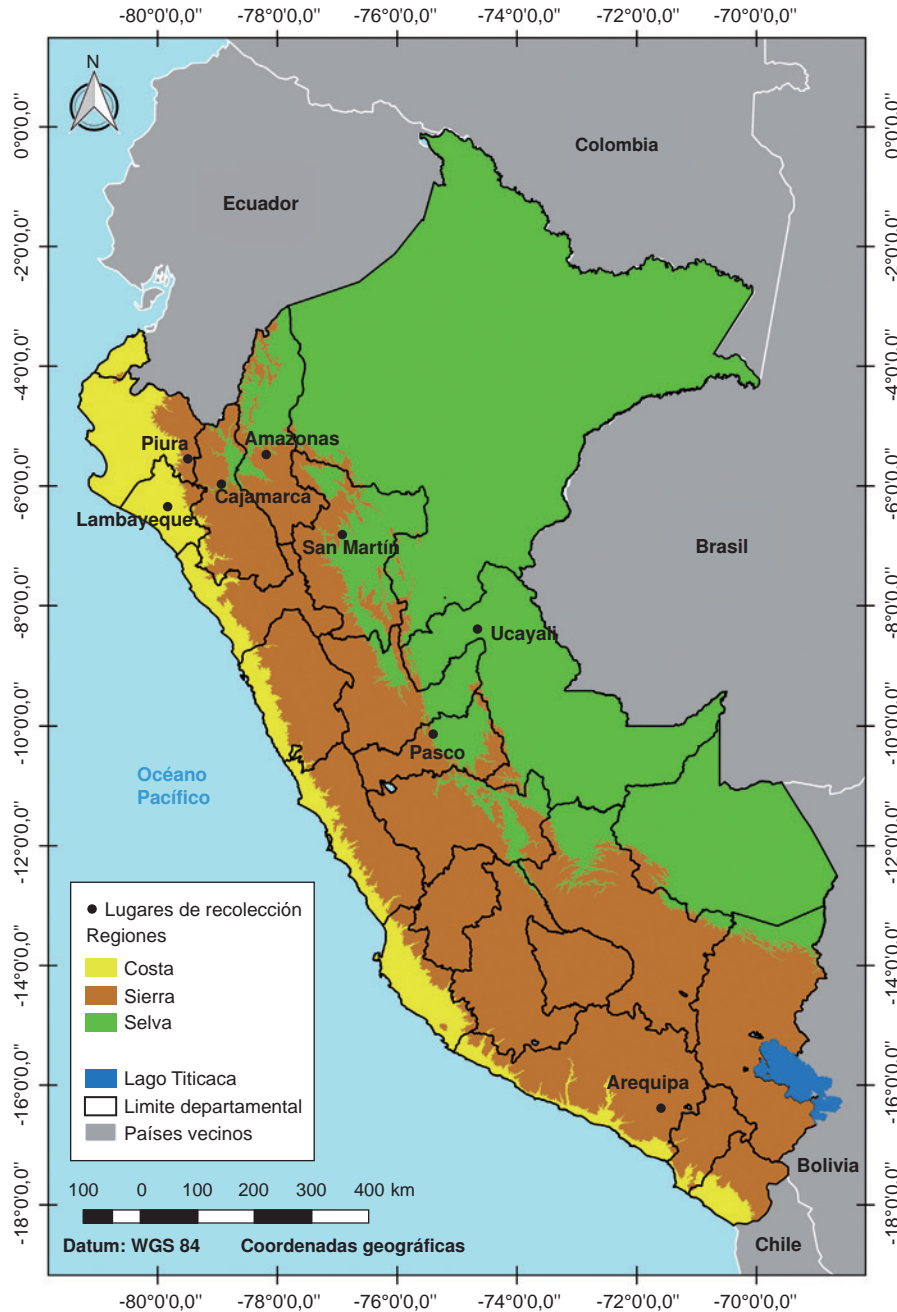


Figura 1. Regiones naturales de Perú. Se indican con (•) los departamentos donde se capturaron los 179 triatomos.

para diferenciar los linajes TcII y TcVI, se hizo una tercera PCR para la región 18Sα rRNA: la TcII arrojó un producto de 165 pb y la TcVI no generó producto, aunque algunas cepas produjeron una banda tenue de 165 pb.

Se utilizaron seis cepas de referencia internacional correspondientes a las DTU para identificar los genotipos presentes en cada vector (TcI, cepa 833; TcII, cepa Y; TcIII, cepa MT3663; TcIV, cepa

José Julio; TcV, cepa 967, y TcVI, cepa CL Brener) (figuras 2 y 3). Los productos de amplificación se visualizaron en geles de agarosa al 2 % y en geles de poliacrilamida al 6 %, teñidos con Red Gel™ y nitrato de plata, respectivamente.

Resultados

De los ocho departamentos donde se capturaron las siete especies de triatomos, solamente en seis se confirmó la presencia de *T. cruzi* (Amazonas,

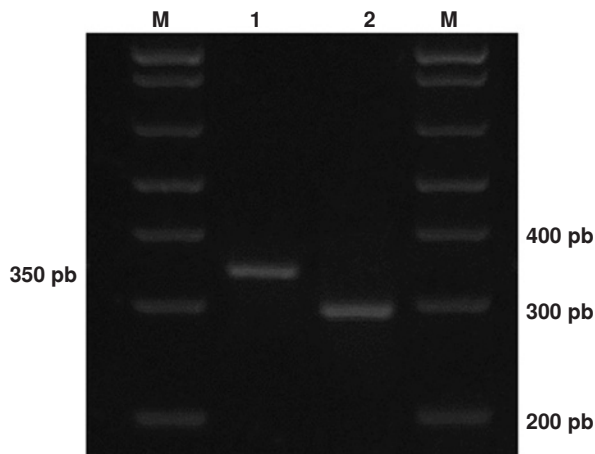


Figura 2. Gel de agarosa al 2 % teñido con RedGel™. Productos de amplificación obtenidos mediante PCR del gen miniexón con los iniciadores TCC/TCI/TC2 (34). M: marcador de peso molecular de 100 pb (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA USA); carril 1: cepas de referencia de TcI (cepa 833); carril 2: cepa de referencia de TcII (cepa Y)

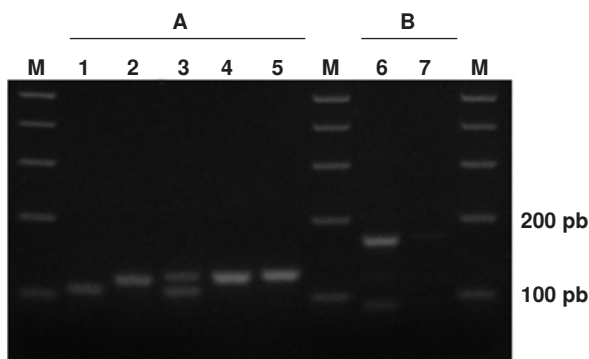


Figura 3. Gel de agarosa al 2 % teñido con Red Gel™. **A:** Productos de amplificación obtenidos mediante PCR de la región 24Sa rRNA con los iniciadores D71/D72 (35). M: marcador de peso molecular de 100 pb (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA USA); 1: TcIII de la cepa de referencia MT3663; 2: TcIV cepa de referencia José Julio; 3: TcV de la cepa de referencia 967; 4: TcVI de la cepa de referencia CL Brener; 5: TcII de la cepa de referencia Y. **B.** Productos de amplificación obtenidos mediante PCR de la región 18Sa rRNA con los iniciadores V1/V2 (33). M: marcador de peso molecular de 100 pb (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA USA); 6: TcII de la cepa de referencia Y; 7: TcVI de la cepa de referencia CL Brener

Arequipa, Cajamarca, Lambayeque, Pasco y Ucayali). En dichos departamentos, la prevalencia de *T. cruzi* fluctuó entre 33,3 y 100 % (cuadro 1).

Se procesaron 197 muestras de heces de triatominos utilizando los iniciadores S35/S36, y se detectaron 113 positivas para *T. cruzi* y cinco para *T. rangeli* (32). *Trypanosoma rangeli sensu lato* se detectó en el contenido intestinal de cuatro

ejemplares de *P. herreri* capturados en el departamento de Amazonas y en un ejemplar de *T. carrioni* procedente del departamento de Cajamarca.

En el cuadro suplementario 1, disponible en <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3559>, se presenta la información sobre especie, fecha de captura, localidad, distrito, provincia, departamento, DTU detectada, latitud, longitud y altura sobre el nivel del mar de los 113 triatominos positivos para *T. cruzi* y los cinco positivos para *T. rangeli*. Además, en el cuadro suplementario 2, disponible en <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3559>, se presenta la información sobre el tipo de clima, temperatura promedio anual, precipitación anual departamental, tipo de vegetación, región ecológica y región natural de las provincias donde fueron capturados los triatominos, información obtenida del Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología (SENAMHI), Lima-Perú, con respecto a los años 2003 a 2015, y del Ministerio del Ambiente, Dirección General de Evaluación, Valoración y Financiamiento del Patrimonio Natural: Lima-MINAM, para el 2015.

En 108 de las 113 muestras positivas para *T. cruzi* procesadas mediante PCR S35/S36 fue posible caracterizar las DTU utilizando amplificación de los genes miniexón, 24Sa rRNA y 18Sa rRNA. Las DTU caracterizadas presentaron la siguiente distribución: 95 de TcI, cinco de TcII, cuatro de TcIII, cuatro de TcIV y cinco cuyas DTU no fueron identificadas (cuadro 2). Se observó una predominancia de la TcI en las siete especies de triatominos analizadas (*T. infestans*, *P. herreri*, *P. chinai*, *P. geniculatus*, *R. pictipes*, *R. robustus* y *T. carrioni*), cuyos ejemplares se capturaron en los departamentos de Amazonas, Arequipa, Cajamarca, Lambayeque, Pasco y Ucayali (figura 4).

La mayoría de las muestras procedentes de Arequipa correspondió a la TcI (12/13 muestras) y, además, se detectó una muestra de TcII. Por otro lado, en

Cuadro 1. Prevalencia de *Trypanosoma cruzi* en siete especies de triatominos capturados en seis departamentos de Perú

Especie	Número de ejemplares capturados	Número de ejemplares positivos	Prevalencia (%)
<i>P. chinai</i>	6	2	33,3
<i>P. geniculatus</i>	2	1	50,0
<i>P. herreri</i>	157	84	53,5
<i>R. pictipes</i>	8	4	50,0
<i>R. robustus</i>	8	8	100,0
<i>T. carrioni</i>	3	1	33,3
<i>T. infestans</i>	13	13	100,0
Total	197	113	57,4

Cuadro 2. Genotipos de *Trypanosoma cruzi* detectados en siete especies de triatomíneos procedentes de seis departamentos de Perú

Especie	TcI	TcII	TcIII	TcIV	TcV	TcVI	DTU no identificada	Total
<i>P. chinai</i>	2	0	0	0	0	0	0	2
<i>P. geniculatus</i>	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>P. herreri</i>	68	4	3	4	0	0	5	84
<i>R. pictipes</i>	4	0	0	0	0	0	0	4
<i>R. robustus</i>	7	0	1	0	0	0	0	8
<i>T. carrioni</i>	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>T. infestans</i>	12	1	0	0	0	0	0	13
Total	95	5	4	4	0	0	5	113

Amazonas se detectó la mayoría de las DTU, así: 49 de TcI, cuatro de TcII, tres de TcIII y cuatro de TcIV. En Cajamarca y en Ucayali, se detectó la TcI en 22 y 10 muestras, respectivamente, y la TcIII se detectó en una muestra procedente de Ucayali (cuadro 3). No se detectaron genotipos correspondientes a TcV y TcVI.

Discusión

En el tubo digestivo de 118 (60 %) de los 197 triatomíneos procesados, se detectaron tripanosomas, de los cuales 113 correspondieron a *T. cruzi* y cinco a *T. rangeli*. En 108 de las muestras positivas para *T. cruzi*, se logró identificar la correspondiente DTU, y cinco se determinaron como *T. cruzi sensu lato*.

En estudios previos se ha reportado que *T. rangeli* puede discriminar en dos grupos, KP1(+) y KP1(-), con base en la presencia o ausencia del minicírculo KP1 del ADN del cinetoplasto (kDNA) (35). Además, el análisis de la subunidad pequeña del ARN ribosómico (SSU-rRNA) ha permitido identificar cinco linajes (A, B, C, D, y E) en Centroamérica y Suramérica (36,37). En el caso de las cinco muestras de *T. rangeli*, estas se determinaron como *T. rangeli sensu lato*, sin identificar el linaje correspondiente debido a la escasa concentración del ADN del parásito. La presencia de *T. rangeli* se ha reportado previamente en Perú (28,38) y algunos aislamientos de *R. ecuadoriensis* en el departamento de Cajamarca se caracterizaron como *T. rangeli* KP1(-)/C (39,40). En este último estudio, los investigadores informaron que en las especies de *Rhodnius* de la cordillera de los Andes (*R. pallescens*, *R. colombiensis*, *R. ecuadoriensis*) circula el genotipo *T. rangeli* KP1(-)/C. En estudios recientes en las provincias de Loja y Manabí en Ecuador, se reportó la presencia de *T. rangeli* KP1(-)/C en el intestino de *R. ecuadoriensis*, *P. howardi* y *P. rufotuberculatus* (41), lo cual indica que es posible detectar la presencia de *T. rangeli*

en el intestino de especies diferentes a *Rhodnius*, tal como se documentó previamente en *P. megistus* en Santa Catarina, Brasil (35).

En el presente estudio, se reportó la presencia de *T. rangeli* en el intestino de cuatro ejemplares de *P. herreri* recolectados en Amazonas y en un ejemplar de *T. carrioni* procedente de Cajamarca. La presencia de *T. rangeli* en el intestino de los triatomíneos es muy frecuente en varias regiones de Latinoamérica, aunque la invasión de las glándulas salivales solo ocurre en las especies del género *Rhodnius* (42). Los genotipos de *T. rangeli* detectados en el presente trabajo en el intestino de *P. herreri* y *T. carrioni* podrían corresponder a *T. rangeli* KP1(-) (C,D,E) o a *T. rangeli* KP1(+) (A,B). Para confirmar estas posibilidades será necesario caracterizar el parásito presente en el intestino de estos vectores con la finalidad de confirmar el tipo de linaje que circula en ellos.

En un estudio previo en Perú se abordó la detección de las DTU de *T. cruzi* en un número reducido de muestras (16 aislamientos), por lo cual sus resultados no fueron concluyentes (43). En el presente estudio, en 108 de las muestras positivas para *T. cruzi* se logró identificar la correspondiente DTU y cinco se determinaron como *T. cruzi sensu lato*. Se confirmó, asimismo, que la DTU TcI (95/108=88%) predominó en las especies de los triatomíneos recolectados en los seis departamentos de Perú (cuadro 3). Esta situación es similar en los países centroamericanos y en los países de la región norte de Suramérica, en donde predomina *T. cruzi* I (TcI) sobre *T. cruzi* II (TcII), *T. cruzi* III (TcIII) y *T. cruzi* IV (TcIV) (17,44-47).

En un estudio en Venezuela, el 94,1 % de 778 aislamientos correspondió a la TcI, mientras que la TcIV y la TcIII se detectaron en 3,1 y 2,8 % de ellos, respectivamente. En aislamientos humanos se detectaron la TcI y la TcIV en 79 y 21 % de ellos,

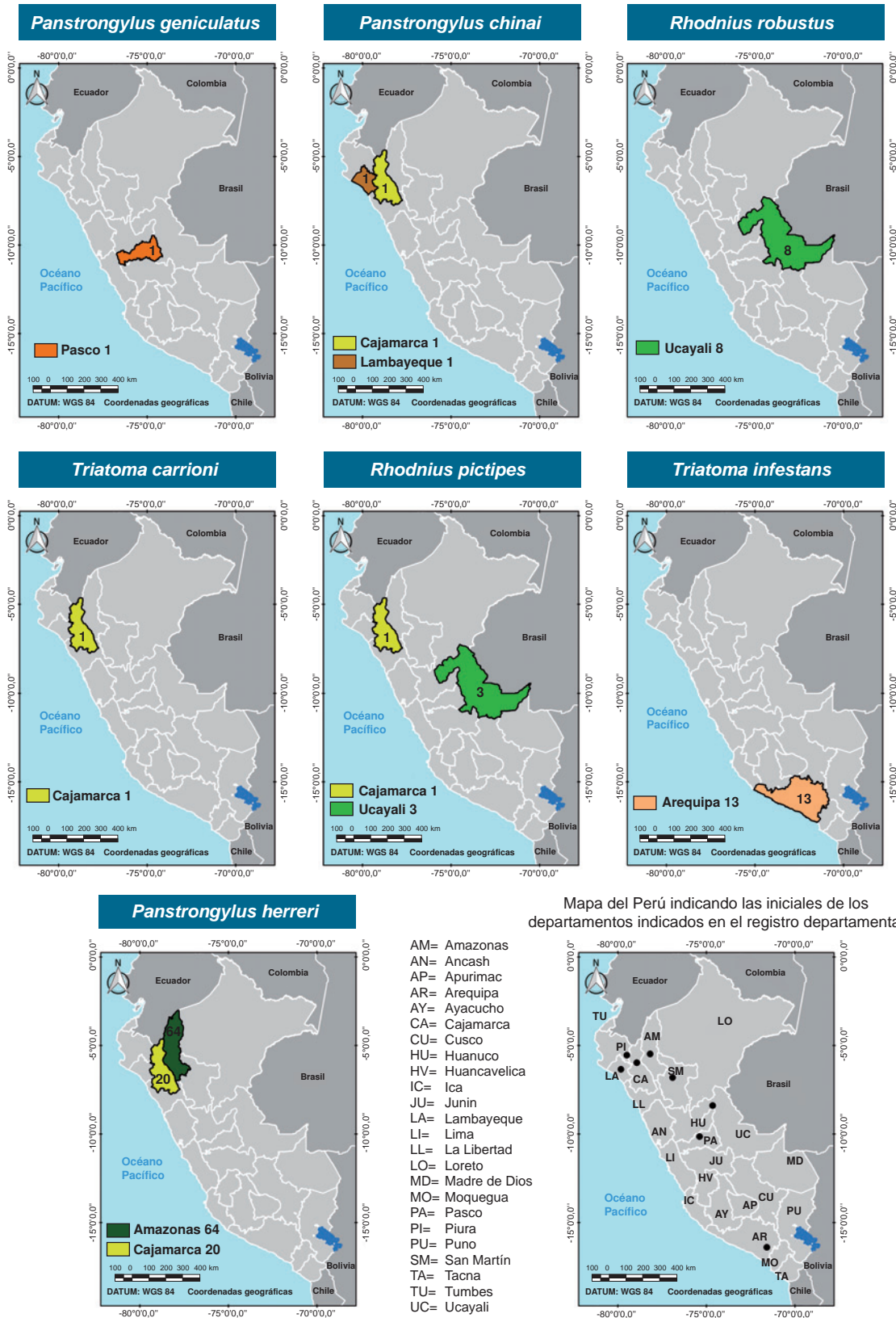


Figura 4. Distribución geográfica de 113 muestras de *Trypanosoma cruzi* de siete especies de triatominos caracterizadas mediante técnicas moleculares para la identificación de las DTU. Los números indican la cantidad de muestras positivas detectadas.

Cuadro 3. Distribución de genotipos de *Trypanosoma cruzi* por departamento en Perú

Especie	TcI	TcII	TcIII	TcIV	TcV	TcVI	DTU no identificada	Total
Amazonas	49	4	3	4	0	0	4	64
Arequipa	12	1	0	0	0	0	0	13
Cajamarca	22	0	0	0	0	0	1	23
Lambayeque	1	0	0	0	0	0	0	1
Pasco	1	0	0	0	0	0	0	1
Ucayali	10	0	1	0	0	0	0	11
Total	95	5	4	4	0	0	5	113

respectivamente, pero no se detectó la TcIII, en tanto que en los aislamientos de triatomíneos se detectaron tres linajes (TcI, TcIV y TcIII) (46). En Bolivia, 99,1 % de 333 muestras del contenido intestinal de *T. infestans* correspondió a la TcI (45), y en Chile este fue el linaje más prevalente en muestras del contenido intestinal de *T. infestans* (97,6 %), detectado en 100 % de los ejemplares recolectados en el interior de las viviendas y en 93,3 % de los ejemplares selváticos (47). La predominancia de la TcI podría estar asociada a una mayor capacidad de los vectores para transmitirla, similar a lo que se ha demostrado para *T. infestans*, especie que tiene una mayor capacidad de transmitir la TcI que la TcV y la TcII (48); asimismo, el linaje TcI tiene mayor eficiencia para infectar huéspedes (49).

Es importante señalar que en este estudio se recolectaron en algunas localidades de las provincias de Bagua y Utcubamba, departamento de Amazonas, 101 ejemplares de *P. herreri* en el interior de las viviendas, de los cuales 64 fueron positivos para *T. cruzi* (64/101; 63,4 %) y cuatro para *T. rangeli* (4/101; 4 %). Esta región (Selva) presentó la mayor variabilidad de las DTU de *T. cruzi*: TcI (49/64; 76,6 %), TcII (4/64; 6,25 %), TcIII (3/64; 4,7 %), TcIV (4/64; 6,25 %) y algunas no determinadas (5/64; 7,8 %). En estas mismas localidades de las dos provincias (Amazonas), se capturaron en años anteriores ejemplares de *P. herreri* en el peridomicilio (27).

La variabilidad de las DTU en el departamento de Amazonas podría explicarse por las características y la ubicación de las viviendas de las diversas localidades; por ejemplo, las viviendas de la localidad de El Hebrón, distrito de Cajaruro, provincia de Utcubamba (figura 5), se encontraban cerca de la floresta, y 90 % de ellas estaban construidas con material favorable para la colonización de triatomíneos (paredes de adobe, techo de calamina, sin piso asfaltado y paredes externas e internas sin

**Figura 5.** Localidad de El Hebrón, distrito de Cajaruro, provincia de Utcubamba, departamento de Amazonas

estucar). Asimismo, en el interior de las viviendas había cuyes (*Cavia porcellus*) y en los alrededores con frecuencia se observaban perros y gatos, así como corrales para aves y cerdos. Precisamente en esta localidad se detectaron cinco DTU de TcI, tres de TcII, dos de TcIII y dos de TcIV, lo cual indica la gran variabilidad de las DTU de *T. cruzi* en esta región. Sin duda, en la floresta de El Hebrón los animales silvestres visitan durante la noche los alrededores de las viviendas con la finalidad de alimentarse de frutas y ubicar sus presas. En los alrededores de las viviendas se ha observado la presencia de *P. herreri* y, por lo tanto, existe la probabilidad de que estos triatomíneos se alimenten tanto de animales silvestres como de los domésticos.

En el presente estudio, se capturaron ejemplares de *P. herreri* en el interior de las viviendas, pero en estudios previos se han capturado ejemplares de esta especie también en el peridomicilio (27). Estas observaciones sugieren la coexistencia en esta zona de los ciclos de transmisión doméstica, peridoméstica y silvestre; no obstante, es necesario verificar esta hipótesis en futuros proyectos. Los resultados de este estudio en la selva amazónica peruana coinciden con los de otros estudios de caracterización de *T. cruzi* aislado de vectores y

reservorios de la Amazonia brasilera, donde se ha documentado la presencia de *T. cruzi* I, *T. cruzi* III y *T. cruzi* IV (50,51).

En el departamento de Ucayali (Selva), se recolectaron en el interior de las viviendas ocho ejemplares de *R. robustus* y tres de *R. pictipes*. Estas dos especies son estrictamente silvestres, por lo que este hecho constituye una evidencia de su comportamiento intrusivo de las viviendas humanas. Las viviendas de las localidades de El Porvenir-Cashibo y San José, distrito de Campo Verde, provincia de Coronel Portillo, se ubicaban en la floresta de bosque secundario (a unos 5 a 10 m), poblado de palmeras, árboles y arbustos (figura 6), y sus paredes eran de madera, el techo de hojas de palmeras y el piso de tierra. Cada vivienda constaba de dos a tres ambientes; en los alrededores se criaban aves de corral y cerdos, y en el interior de las viviendas, cuyes. Sobre los árboles circundantes ocasionalmente se observó la presencia de animales silvestres (monos tití).

Por otro lado, algunas viviendas de la localidad de Misión Suiza del Perú, distrito de Campo Verde, provincia de Coronel Portillo (Amazonas), se ubicaban en las cercanías o a 100 m del bosque

secundario, caracterizado por la presencia de palmeras, árboles y unos pocos arbustos. Las viviendas allí también eran de materiales favorables para los triatominos (paredes de madera, la mayoría con techo de hojas de palmeras y ramas de árboles, y pocas con techo de eternit o calamina) (figura 7), y se acostumbraba la cría de aves de corral. Por las características de las viviendas y por las especies de triatominos capturados en esas localidades, se puede concluir que no se daba el ciclo de transmisión doméstica o peridoméstica, y que el ciclo silvestre llegaba hasta las viviendas humanas con la intrusión de *R. robustus* y *R. pictipes*. En la localidad de El Porvenir-Cashibo, se detectó la presencia de TcI en siete ejemplares de *R. robustus* y en tres de *R. pictipes*, y en uno de *R. robustus*, la de TcIII.

En el departamento de Cajamarca (Sierra), se recolectaron 54 ejemplares de *P. herreri*, de los cuales 20 (20/54; 37,04 %) resultaron positivos para *T. cruzi*, y en 19 (19/20; 95 %) se identificó la TcI, en tanto que en un ejemplar (1/20; 5 %) no se logró identificar la DTU. Estos resultados sugieren que en las cuatro localidades de los dos distritos de la provincia de Cutervo (Cajamarca), de donde procedían los triatominos, la transmisión de *T. cruzi*



Figura 6. Viviendas ubicadas en las localidades de El Porvenir-Cashibo y San José, distrito Campo Verde, provincia del Coronel Portillo, departamento de Ucayali



Figura 7. Viviendas ubicadas en la localidad de Misión Suiza del Perú, distrito Campo Verde, provincia del Coronel Portillo, departamento de Ucayali

era doméstica. *Panstrongylus herreri* es un triatomo doméstico, pues todo su ciclo biológico lo desarrolla en el interior de las viviendas (27), pero también hay presencia de animales domésticos, como cuyes, perros y gatos, que constantemente se desplazan de un ambiente a otro de la vivienda donde se encuentran los estadios inmaduros y adultos de *P. herreri* que así tienen la oportunidad de alimentarse de dichos animales.

En la misma provincia de Cutervo (Cajamarca), pero en localidades pertenecientes a distritos diferentes, en numerosas oportunidades se han capturado ejemplares de *P. herreri* en ambientes domésticos, peridomésticos y silvestres, aunque en estos dos últimos ambientes el número de las capturas fue menor que en el interior de las viviendas; asimismo, se ha informado la presencia de tripanosomas en las heces de *P. herreri* (Sara Castro y Deysi Luna-Caipo, comunicación personal, 15 de marzo de 2016). Por ello, es necesario y prioritario evaluar los triatomos existentes en los ambientes peridomésticos y silvestres para determinar con exactitud el tipo de transmisión del parásito en las áreas de estudio y, a la vez, determinar las DTU circulantes.

Por las limitaciones del muestreo, en este estudio solo se examinó un ejemplar de *P. chinai* proveniente de la costa norte, de la localidad de La Peña, distrito de Salas, provincia de Lambayeque (Lambayeque), y en él se detectó *T. cruzi* I. Las referencias bibliográficas indican que se han observado *T. cruzi* mediante microscopía en ejemplares de *P. chinai* y *R. ecuadoriensis* capturados en Tumbes, Piura, Lambayeque, La Libertad y Ancash en la costa norte (52-55). Se han encontrado varios ejemplares de *R. ecuadoriensis* procedentes de la costa de Piura y de La Libertad infectados naturalmente con *T. rangeli* (28,38,56) y, en estudios posteriores con cepas de *T. rangeli* aisladas de

ejemplares procedentes del departamento de La Libertad, se encontró el genotipo *T. rangeli* KP1 (-)/C (39,40).

En la costa sur (Ica, Arequipa, Moquegua y Tacna), *T. infestans* es el único triatomo presente. En algunas localidades de la costa de las provincias de Ica, Palpa y Nazca, departamento de Ica, se recolectan con frecuencia ejemplares de *T. infestans* infectados naturalmente con *T. cruzi* (57); sin embargo, en los estudios no se menciona la caracterización de las DTU.

Entre 2012 y 2014, se capturaron ejemplares de *T. infestans* en el domicilio y el peridomicilio, en localidades de la costa de la provincia de Caraveli, departamento de Arequipa; sin embargo, no se ha detectado *T. cruzi* en estos especímenes mediante microscopía (Nancy Ruelas-Llerena, comunicación personal, marzo de 2016, y Fernando Málaga Chávez, comunicación personal, 8 de abril de 2016). Esto mismo sucede con los ejemplares de *T. infestans* de la costa de los departamentos de Moquegua y Tacna (Miriam Guzmán Loayza y Javier Villanueva Roque, comunicación personal, 10 de abril de 2016).

En estudios recientes sobre la variabilidad de *T. cruzi* I en Colombia, se detectaron dos genotipos claramente diferenciados denominados *T. cruzi* I doméstico (asociado a *R. prolixus* doméstico) y *T. cruzi* I selvático (asociado a ejemplares silvestres de *R. pallescens* y *R. colombiensis*) (58). Esta misma diferenciación molecular se observó en 101 aislamientos de *T. cruzi* I en ese país, pues en 70 % de ellos se encontró la TcI selvática y, en 30 %, la TcI doméstica (59). El genotipo selvático se ha asociado con los casos agudos de transmisión vectorial en áreas selváticas y en casos de transmisión oral por contaminación de alimentos (58). Aunque en Perú se documentó un primer caso de enfermedad aguda de Chagas por transmisión vectorial de *T. cruzi*, en el cual se implicó *P. geniculatus* (29), es muy importante confirmar si en el país están presentes estos mismos genotipos de *T. cruzi* I, denominados *T. cruzi* I doméstico y *T. cruzi* I selvático (58), lo cual permitirá obtener información sobre la epidemiología de *T. cruzi* en Perú y confirmar si eventuales casos de enfermedad de Chagas aguda pudieran estar asociados a los genotipos silvestres de *T. cruzi* I, como ya se reportó en Colombia (58).

En este trabajo se documentó la presencia de *T. cruzi* en vectores procedentes de zonas endémicas de Perú, entre ellos, *P. herreri*, *T. infestans*,

P. chinai, *P. geniculatus*, *R. pictipes*, *R. robustus* y *T. carrioni*. Las DTU presentes en el intestino de estos vectores de importancia epidemiológica se caracterizaron y se determinó que la TcI fue la más abundante, y que la TcII, la TcIII y la TcIV fueron menos frecuentes. La información presentada contribuye a una mejor comprensión de la dinámica de transmisión vectorial de *T. cruzi* en Perú.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica de Perú (CONCYTEC), por la subvención económica proporcionada a Carlos Padilla para su pasantía en el Laboratorio de Investigaciones en Parasitología Tropical de la Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia, donde se hicieron los estudios moleculares para la tipificación de las DTU de *T. cruzi*. Al Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación de Colombia (Colciencias) y al Fondo de Investigaciones de la Universidad del Tolima en ese país, por la financiación parcial de la tipificación de *T. cruzi*.

Conflicto de intereses

Los autores declaramos que no existen conflictos de intereses.

Financiación

El presente trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica de Perú (CONCYTEC), por el Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación, Colciencias, de Colombia (contrato 110551929038), y por el Fondo de Investigaciones de la Universidad del Tolima de ese país.

Referencias

1. **World Health Organization.** Chagas disease (American trypanosomiasis). Fecha de consulta: 10 de enero de 2015. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>.
2. **Rueda K, Trujillo JE, Carranza JC, Vallejo GA.** Transmisión oral de *Trypanosoma cruzi*: una nueva situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en Colombia y otros países suramericanos. *Biomédica*. 2014;34:631-41. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i4.2204>
3. **Zingales B, Andrade SG, Briones MR, Campbell DA, Chiari E, Fernandes O, et al.** A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: Second revision meeting recommends TcI to TcVI. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104:1051-4. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762009000700021>
4. **Zingales B, Miles MA, Campbell DA, Tibayrenc M, Macedo AM, Teixeira MM, et al.** The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infect Genet Evol*. 2012;12:240-53. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.12.009>
5. **Marcili A, Lima L, Cavazzana MJ, Junqueira AC, Veludo HH, Maia da Silva F, et al.** 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*. 2009;136:641-55. <https://doi.org/10.1017/S0031182009005861>
6. **Pinto CM, Kalko EK, Cottontail I, Wellinghausen N, Cottontail VM.** TcBat a bat-exclusive lineage of *Trypanosoma cruzi* in the Panamá Canal Zone, with comments on its classification and the use of the 18S rRNA gene for lineage identification. *Infect Genet Evol*. 2012;12:1328-32. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.04.013>
7. **Ramírez JD, Tapia-Calle G, Muñoz-Cruz G, Poveda C, Rendón LM, Hincapié E, et al.** Trypanosome species in neotropical bats: Biological, evolutionary and epidemiological implications. *Infect Genet Evol*. 2014;22:250-6. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.06.022>
8. **Lima L, Espinosa-Álvarez O, Ortiz PA, Trejo-Varón JA, Carranza JC, Pinto CM, et al.** Genetic diversity of *Trypanosoma cruzi* in bats, and multilocus phylogenetic and phylogeographical analyses supporting TcBat as an independent DTU (discrete typing unit). *Acta Trop*. 2015;151:166-77. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.07.015>
9. **Herrera C, Bargues MD, Fajardo A, Montilla M, Triana O, Vallejo GA, et al.** Identifying four *Trypanosoma cruzi* I isolate haplotypes from different geographic regions of Colombia. *Infect Genet Evol*. 2007;7:535-9. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2006.12.003>
10. **Llewellyn MS, Miles MA, Carrasco HJ, Lewis MD, Yeo M, Vargas J, 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. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000410>
11. **Ramírez JD, Guhl F, Rendón LM, Rosas F, Marín-Neto JA, Morillo CA.** Chagas cardiomyopathy manifestations and *Trypanosoma cruzi* genotypes circulating in chronic chagasic patients. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010;4:e899. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000899>
12. **Mantilla JC, Zafra GA, Macedo AM, González CI.** Mixed infection of *Trypanosoma cruzi* I and II in a Colombian cardiomyopathic patient. *Hum Pathol*. 2010;41:610-3. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2009.11.005>
13. **Rassi A Jr, Rassi A, Marcondes de Rezende J.** American trypanosomiasis (Chagas disease). *Infect Dis Clin North Am*. 2012;26:275-91. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2012.03.002>
14. **Monje-Rumi MM, Pérez-Brandán C, Ragone PG, Tomasini N, Lauthier JJ, Alberti-D'Amato AM, et al.** *Trypanosoma cruzi* diversity in the Gran Chaco: Mixed infections and differential host distribution of TcV and TcVI. *Infect Genet Evol*. 2015;29:53-9. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.11.001>
15. **Cura CI, Mejía-Jaramillo AM, Duffy T, Burgos JM, Rodríguez M, Cardinal MV, et al.** *Trypanosoma cruzi* I genotypes in different geographical regions and transmission cycles based on a microsatellite motif of the intergenic spacer of spliced-leader genes. *Int J Parasitol*. 2010;40:1599-607. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.06.006>

16. **Yeo M, Acosta N, Llewellyn M, Sánchez H, Adamson S, Miles GA, 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;35:225-33. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2004.10.024>
17. **Vallejo GA, Guhl F, Carranza JC, Herrera C, Urrea DA, Falla A, et al.** *Trypanosoma cruzi* population variability in Colombia: Possible co-evolution in different vector species. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2009;42(Supl.II):27-34.
18. **Wiesenberger SJ, Barnabé C, Campbell DA, Sturm NR.** Two hybridization events define the population structure of *Trypanosoma cruzi*. *Genetics.* 2005;171:527-43. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.038745>
19. **García ES, Genta FA, Azambuja P, Schaub GA.** Interactions between intestinal compounds of triatomines and *Trypanosoma cruzi*. *Trends Parasitol.* 2010;20:499-505. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2010.07.003>
20. **Vallejo GA, Guhl F, Schaub GA.** Triatominae-*Trypanosoma cruzi*-*T. rangeli*: Vector-parasite interactions. *Acta Trop.* 2009;110:137-47. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.10.001>
21. **Castro DP, Moraes CS, González MS, Ratcliffe NA, Azambuja P, García ES.** *Trypanosoma cruzi* immune response modulation decreases microbiota in *Rhodnius prolixus* gut and is crucial for parasite survival and development. *PLoS One.* 2012;7:e36591. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036591>
22. **Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades Dr. Daniel Olaechea.** Boletín epidemiológico. Semana epidemiológica 52 de 2014. Fecha de consulta: 15 de enero de 2015. Disponible en: <http://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2014/52.pdf>
23. **Alroy KA, Huang C, Gilman RH, Quispe-Machaca VR, Marks MA, Ancca-Juárez J, et al.** Prevalence and transmission of *Trypanosoma cruzi* in people of rural communities of the high jungle of northern Perú. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015;9:e0003779. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003779>
24. **Chávez J.** Contribución al estudio de los triatomíneos del Perú: distribución geográfica, nomenclatura y notas taxonómicas. *An Fac Med Lima.* 2006;67:65-76.
25. **Elliot A, Cáceres I, Guillén Z, Nakashima I.** Identificación de los chinches triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae) conocidos del Perú. *Rev Per Ent.* 1988;31:18-20.
26. **Guillén Z, Cáceres I, Elliot A, Ramírez J.** Triatomíneos del norte peruano y su importancia como vectores de *Trypanosoma* spp. *Rev Per Ent.* 1989;31:25-30.
27. **Cáceres GA, Troyes L, Gonzáles-Pérez A, Llontop E, Bonilla C, Murias E, et al.** Enfermedad de Chagas en la región nororiental del Perú. I. Triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae) presentes en Cajamarca y Amazonas. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2002;19:17-23.
28. **Cuba CA, Abad-Franch F, Roldán J, Vargas F, Pollack L, Miles MA.** The triatomíneos of northern Perú, with emphasis on the ecology and infection by trypanosomes of *Rhodnius ecuadoriensis* (Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2002;97:175-183. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762002000200005>
29. **Vega S, Mendoza A, Cabrera R, Cáceres GA, Campos E, Ancca J, et al.** Primer caso de enfermedad de Chagas aguda en la Selva Central del Perú: investigación de colaterales, vectores y reservorios. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2006;23:288-92.
30. **Macedo AM, Oliveira RP, Pena SD.** Chagas disease: Role of parasite genetic variation in pathogenesis. *Expert Rev Mol Med.* 2002;4:1-16. <https://doi.org/10.1017/S1462399402004118>
31. **Lent H, Wygodzinsky P.** Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas disease. *Bull Am Mus Nat His.* 1979;163:123-520.
32. **Vallejo GA, Guhl F, Chiari E, Macedo AM.** Species-specific detection of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* in vector and mammalian hosts by polymerase chain reaction amplification of kinetoplast minicircle DNA. *Acta Trop.* 1999;72:203-12. [https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(98\)00085-0](https://doi.org/10.1016/S0001-706X(98)00085-0)
33. **Brisse S, Verhoef J, Tibayrenc M.** Characterisation of large and small subunit rRNA and mini-exon genes further supports the distinction of six *Trypanosoma cruzi* lineages. *Int J Parasitol.* 2001;31:1218-26. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(01\)00238-7](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(01)00238-7)
34. **Souto RP, Fernandes O, Macedo AM, Campbell DA, Zingales B.** DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasitol.* 1996;83:141-52. [https://doi.org/10.1016/S0166-6851\(96\)02755-7](https://doi.org/10.1016/S0166-6851(96)02755-7)
35. **Vallejo GA, Guhl F, Carranza JC, Lozano LE, Sánchez JL, Jaramillo JC, et al.** KDNA markers define two major *Trypanosoma rangeli* lineages in Latin-America. *Acta Tropica.* 2002;81:77-82. [https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(01\)00186-3](https://doi.org/10.1016/S0001-706X(01)00186-3)
36. **Maia Da Silva F, Junqueira AC, Campaner M, Rodrigues AC, Crisante G, Ramirez LE, et al.** Comparative phylogeography of *Trypanosoma rangeli* and *Rhodnius* (Hemiptera: Reduviidae) supports a long coexistence of parasite lineages and their sympatric vectors. *Mol Ecol.* 2007;16:3361-73. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03371.x>
37. **Maia da Silva F, Marcili A, Lima L, Cavazzana M Jr, Ortiz PA, Campaner M, et al.** *Trypanosoma rangeli* isolates of bats from Central Brazil: Genotyping and phylogenetic analysis enable description of a new lineage using spliced-leader gene sequences. *Acta Trop.* 2009;109:199-207. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.11.005>
38. **Cuba CA, Vallejo GA, Gurgel-Gonçalves R.** Triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae) prevalent in the northwest of Perú: Species with epidemiological vectorial capacity. *Parasitol Latinoam.* 2007;62:154-64. <https://doi.org/10.4067/S0717-77122007000200009>
39. **Urrea DA, Carranza JC, Cuba-Cuba CA, Gurgel-Gonçalves R, Guhl F, Schofield CJ, et al.** Molecular characterisation of *Trypanosoma rangeli* strains isolated from *Rhodnius ecuadoriensis* in Perú, *R. colombiensis* in Colombia and *R. pallidus* in Panamá, supports a co-evolutionary association between parasites and vectors. *Infect Genet Evol.* 2005;5:123-9. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2004.07.005>
40. **Urrea DA, Herrera CP, Falla A, Carranza JC, Cuba-Cuba C, Triana-Chávez O, et al.** 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 Trop.* 2011;120:59-66. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2011.05.016>
41. **Ocaña-Mayorga S, Aguirre-Villacis F, Pinto C, Vallejo GA, Grijalva M.** High prevalence and low genetic diversity of *Trypanosoma rangeli* in sylvatic *R. ecuadoriensis* and mammal hosts. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2015;15:732-42. <https://doi.org/10.1089/vbz.2015.1794>
 42. **Vallejo GA, Suárez Y, Olaya JL, Gutiérrez SA, Carranza JC.** *Trypanosoma rangeli*: un protozoo infectivo y no patógeno para el humano que contribuye al entendimiento de la transmisión vectorial y la infección por *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas. *Rev Acad Colomb Cienc Ex Fis Nat.* 2015;39:111-22.
 43. **Ancca J, Vega S, Pinto J, Naquira C.** Caracterización genética de *Trypanosoma cruzi* aislados de triatominos de áreas endémicas a la enfermedad de Chagas en el Perú. *Rev Ibero Latinoam Parasitol.* 2009;1:8-14.
 44. **Guhl F, Ramírez JD.** Retrospective molecular integrated epidemiology of Chagas disease in Colombia. *Infect Genet Evol.* 2013;20:148-54. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.08.028>
 45. **Brenière SF, Aliaga C, Waleckx E, Buitrago R, Salas R, Barnabé C, et al.** Genetic characterization of *Trypanosoma cruzi* DTUs in wild *Triatoma infestans* from Bolivia: Predominance of TcI. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6:e1650. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001650>
 46. **Carrasco HJ, Segovia M, Llewellyn MS, Morocoima A, Urdaneta-Morales S, Martínez C, et al.** Geographical distribution of *Trypanosoma cruzi* genotypes in Venezuela. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6:e1707. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001707>
 47. **Bacigalupo A, Segovia V, García A, Botto-Mahan C, Ortiz S, Solari A, et al.** Differential pattern of infection of sylvatic nymphs and domiciliary adults of *Triatoma infestans* with *Trypanosoma cruzi* genotypes in Chile. *Am J Trop Med Hyg.* 2012;87:473-80. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.11-0237>
 48. **de Lana M, da Silveira Pinto A, Barnabé C, Quesney V, Noël S, Tibayrenc M.** *Trypanosoma cruzi*: Compared vectorial transmissibility of three major clonal genotypes by *Triatoma infestans*. *Exp Parasitol.* 1998;90:20-5. <https://doi.org/10.1006/expr.1998.4304>
 49. **Galuppo S, Bacigalupo A, García A, Ortiz S, Coronado X, Cattán PE, et al.** Predominance of *Trypanosoma cruzi* genotypes in two reservoirs infected by sylvatic *Triatoma infestans* of an endemic area of Chile. *Acta Trop.* 2009;111:90-3. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.02.010>
 50. **Monteiro WM, Magalhães LK, Santana Filho FS, Borborema M, Silveira H, Barbosa MD.** *Trypanosoma cruzi* TcIII/Z3 genotype as agent of an outbreak of Chagas disease in the Brazilian Western Amazonia. *Trop Med Int Health.* 2010;15:1049-51. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2010.02577>
 51. **Monteiro WM, Teston AP, Gruending AP, dos Reis D, Gomes ML, de Araújo SM, et al.** *Trypanosoma cruzi* I and IV stocks from Brazilian Amazon are divergent in terms of biological and medical properties in mice. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7: e2069. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002069>
 52. **Calderón-Falero G.** Chinchas triatominos (Hemiptera: Reduviidae) de la región Grau, Perú. *Rev Per Ent.* 1996;38:19-22.
 53. **Guillén Z, Cáceres I, Elliot A.** Los triatominos (Hemiptera, Reduviidae) de la zona Centro del Perú. *Rev Per Med Trop UNMSM.* 1992;6:89-91.
 54. **Jara CA, Escalante H, Roldán J, Díaz-Lima E.** Distribución y frecuencia de infección por *Trypanosoma cruzi* de triatominos y *Ovis aries* en el Valle de Chamán, La Libertad, Perú. *Sciendo.* 1998;1:23-31.
 55. **Llanos B.** Hallazgo en el Perú de *Rhodnius ecuadoriensis* Lent & León, 1958, naturalmente infectado por *Trypanosoma cruzi*. Nota preliminar. *Arch Per Pat Clin.* 1961;15:133-40.
 56. **Cuba-Cuba AC, Vargas F, Roldán J, Ampuero C.** Domestic *Rhodnius ecuadoriensis* (Hemiptera, Reduviidae) infestation in Northern Perú: A comparative trial of detection methods during a six-month follow-up. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2003;45:85-90. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652003000200006>
 57. **Solís H, De Carvalho E, Ferreira C, Casanova C, Huamán A, Mendoza V.** Contribución al estudio de la epidemiología de la enfermedad de Chagas en tres localidades de la zona Sur del Perú. *An Fac Med Lima.* 2003;64:223-7.
 58. **Villa LM, Guhl F, Zabala D, Ramírez JD, Urrea DA, Hernández DC, et al.** The identification of two *Trypanosoma cruzi* I genotypes from domestic and sylvatic transmission cycles in Colombia based on a single polymerase chain reaction amplification of the spliced-leader intergenic region. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2013;108:932-35. <https://doi.org/10.1590/0074-0276130201>
 59. **León CM, Hernández C, Montilla M, Ramírez JD.** Retrospective distribution of *Trypanosoma cruzi* I genotypes in Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2015;110:387-93. <https://doi.org/10.1590/0074-02760140402>

Cuadro suplementario 2. Base de datos con información sobre clima, temperatura, precipitación y cobertura vegetal de las provincias donde se capturaron los triatominos estudiados

Departamento	Provincia	Tipo de clima	Temperatura promedio anual a nivel departamental	Precipitación total anual a nivel departamental	Tipo de vegetación	Región ecológica	Región natural
Amazonas	Utcubamba	1. Zona de clima semiseco, cálido, con deficiencia de lluvia en otoño, invierno y primavera, con humedad relativa calificada como húmeda 2. Zona de clima semiseco, templado, con deficiencia de lluvia en otoño e invierno, con humedad relativa calificada como húmeda	15,1	1070	1. Áreas sin presencia de bosque amazónico 2. Bosque de montaña montano	Selva alta, clima muy variado Las lluvias pueden superar los 3.000 milímetros anuales	1. Rupa-Rupa De 400 y 1.000 msnm 2. Quechua De 2.300 a 3.500 msnm
	Bagua	Zona de clima cálido, muy lluvioso, precipitaciones abundantes en todas las estaciones del año, humedad relativa calificada como muy húmeda			Bosque de montaña		
Cajamarca	Cutervo	1. Zona de clima semiseco, cálido, con deficiencia de lluvia en otoño, invierno y primavera, con humedad relativa calificada como húmeda. 2. Zona de clima templado, lluvioso, con lluvia deficiente en invierno, con humedad relativa calificada como húmeda	15,4	772,2	1. Matorral arbustivo 2. Agricultura costera y andina	Selva alta, clima muy variado Las lluvias pueden superar los 3.000 milímetros anuales	1. Yunga De 500 a 2.300 msnm y también de 1.000 a 2.300 metros en los valles interandinos 2. Quechua De 2.300 a 3.500 msnm
	Contumaza	Zona de clima semicálido, desértico, con deficiencia de lluvia en todas las estaciones, con humedad relativa calificada como húmeda			Matorral arbustivo		
Arequipa	Arequipa	Zona de clima semiárido, templado, con deficiencia de lluvia en otoño, invierno y primavera, con humedad relativa calificada como seca	17,1	102,3	Agricultura costera y andina	Serranía esteparia Las temperaturas medias oscilan entre 6° y 12° C.	Quechua De 2.300 a 3.500 msnm
	Castilla	1. Zona de clima semiárido, templado, con deficiencia de lluvia en otoño, invierno y primavera, con humedad relativa calificada como seca			Desierto costero		
Ucayali	Coronel Portillo	Zona de clima cálido, lluvioso, con lluvia abundante en todas las estaciones del año, con humedad relativa calificada como muy húmeda	26,0	1944,3	Áreas sin presencia de bosque amazónico	Selva baja Temperatura promedio anual de 24° a 26° C	Omagua Entre los 80 y los 400 msnm 80 metros en la boca del río Yaraví
Pasco	Oxapampa	Zona de clima semicálido, lluvioso, con lluvia abundante en todas las estaciones del año, con humedad relativa calificada como muy húmeda	5,5	897,9	Bosque de montaña montano	Selva alta, clima muy variado Las lluvias pueden superar los 3.000 milímetros anuales.	Quechua De 2.300 a 3.500 msnm
Lambayeque	Lambayeque	Zona de clima desértico, cálido, con deficiencia de lluvia en todas las estaciones, con humedad relativa calificada como húmeda	22,8	35	Agricultura costera y andina	Bosque seco ecuatorial Promedio anual de 23° y 24° C Prolongada estación seca anual que puede extenderse nueve meses del año	Chala De 0 a 500 msnm