

SEROPREVALENCIA DE *Trypanosoma cruzi* EN PERROS DE DOS ÁREAS ENDÉMICAS DE COLOMBIA

BRENDA CAROLINA TURRIAGO GÓMEZ,¹ GUSTAVO ADOLFO VALLEJO² Y FELIPE GUHL³

¹ Universidad de Paul Valéry Montpellier III/Abomey Calavi, Francia; ² Laboratorio de Investigaciones en Parasitología Tropical .Universidad del Tolima, Ibagué, Tolima; ³ Centro de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Tropical-CIMPAT, Universidad de Los Andes, Bogotá, Colombia.

Resumen

La tripanosomiasis americana es una enfermedad antroponozoonótica causada por *Trypanosoma cruzi*, parásito flagelado que se anida y se reproduce principalmente en el tejido cardíaco. Se encuentra ampliamente distribuida en el continente americano y en Colombia se estima que un 2% al 3% de la población está infectado y que cerca del 5% está bajo riesgo de adquirir la infección, debido a la amplia distribución de los insectos triatomíneos, sus vectores. El presente estudio reporta la seroprevalencia para *T. cruzi* en perros (*Canis familiaris*) de dos áreas rurales endémicas del departamento de Boyacá usando la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) y la caracterización molecular de las cepas aisladas. Se procesaron 261 muestras de sueros de perros de diferentes edades obtenidas en los municipios de Soatá y Berbeo. La detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* se realizó mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Se realizó xenodiagnóstico a 185 perros con cuatro resultados positivos, de los que se aislaron tres cepas, caracterizadas molecularmente como *T. cruzi* I (TC-I) por medio de la amplificación del gene miniexon. Los análisis estadísticos mostraron asociaciones significativas entre características de las viviendas tales como el tipo de pared, techo, piso y presencia de anexos con el número de perros positivos para *T. cruzi*. Un total de 10,72% de los sueros procesados fueron positivos, 11,29% en Soatá y 9,5% en Berbeo. Este primer trabajo sobre prevalencia de perros infectados con *T. cruzi* en Colombia revela la importancia epidemiológica de estos animales como reservorios y la caracterización molecular de los aislados contribuye al entendimiento de la dinámica de transmisión del parásito.

Palabras clave: Tripanosomiasis, *Trypanosoma cruzi*, prevalencia, xenodiagnóstico

SEROPREVALENCIA OF *Trypanosoma cruzi* IN DOGS FROM TWO ENDEMIC AREAS OF COLOMBIA

Abstract

American Trypanosomiasis is an antroponozoonotic disease caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*. This protozoan widely distributed in the Americas invades and multiplies mainly in the cardiac tissue. In Colombia, 2%-3% of the population is infected with the parasite and nearly 5% is under risk due to the widely distribution of the triatomine vectors. This study reports in two endemic zones of Boyaca (Colombia) the prevalence of *T. cruzi* in dogs (*Cannis familiaris*) using indirect immunofluorescent antibody test (IFI) and the molecular characterization of strains isolated by xenodiagnosis.

* Correspondencia: fguhl@uniandes.edu.co Dirección postal: CIMPAT - Universidad de los Andes, Bloque A 2 Piso, Carrera 1 No 18*-10 Bogotá, Colombia.

Recibido: Febrero 29 de 2008. Aceptado: Marzo 26 de 2008.

261 sera from mongrel dogs of all ages where obtained from the locations of Soata and Berbeo. The detection of antibodies against *T. cruzi* was performed by IFI, xenodiagnosis was performed in 185 dogs. Four dogs resulted positive and three different strains were isolated and characterized as *T. cruzi* 1 (TC-I) by the miniexon gene amplification. Statistical analyses showed significant associations between house characteristics such as type of walls, ceiling and floor with the number of infected dogs. A total of 10,7% of all processed sera were positive, being 11,2% from Soata and 9,5% from Berbeo. This first approach to determine the prevalence of infected dogs with *T. cruzi* in Colombia reveals the epidemiological importance of dogs as reservoirs of this parasite that may help to better understand the dynamics of the parasite transmission and life cycle.

Key words: Trypanosomiasis, *Trypanosoma cruzi*, prevalence, xenodiagnosis

SEROPREVALENCIA DE *Trypanosoma cruzi* EM CACHORROS DE DUAS ÁREAS ENDÉMICAS DA COLÔMBIA

Resumo

A tripanossomose americana é uma doença antroponozoonótica causada por *Trypanosoma cruzi*, parasito flagelado que se aninha e se reproduz principalmente no tecido cardíaco. Encontra-se amplamente distribuída no continente americano e em Colômbia se estima que um 2% ao 3% da população está infectado e que cerca do 5% está sob risco de adquirir a infecção, devido à ampla distribuição dos insetos triatomíneos, seus vetores. O presente estudo reporta a seroprevalência para *T. cruzi* em cachorros (*Canis familiaris*) de duas áreas rurais endêmicas do departamento de Boyacá e a caracterização molecular das cepas isoladas. Se processaram 261 mostras de soros de cachorros de diferentes idades obtidas nos municípios de Soatá e Berbeo. A detecção de anticorpos anti-*T. cruzi* se realizou mediante a técnica de imunofluorescência indireta (IFI). Se realizou xenodiagnóstico a 185 cachorros com quatro resultados positivos, dos que se isolaram três cepas, caracterizadas molecularmente como TC I por meio da amplificação do gene miniexon. As análises estatísticas mostraram associações significativas entre características das moradias tais como o tipo de parede, teto, andar e presença de anexos com o número de cachorros positivos para *T. cruzi*. Um total de 10,72% dos soros processados foram positivos, 11,29% em Soatá e 9,5% em Berbeo. Este primeiro trabalho sobre prevalência de cachorros infectados com *T. cruzi* em Colômbia revela a importância epidemiológica destes animais como reservatórios e a caracterização molecular dos isolados contribui ao entendimento da dinâmica de transmissão do parasita.

Palavras-chave: Tripanossomose, *Trypanosoma cruzi*, prevalência, xenodiagnóstico

Introducción

Los perros son considerados como importantes reservorios domésticos y pueden contribuir a la transmisión de *T. cruzi* cuando el hombre cohabita con los insectos vectores de la familia *Reduviidae* (1-8). Evaluaciones, posteriores a intervenciones con insecticidas residuales realizadas regularmente para disminuir infestaciones por triatomíneos en áreas rurales del norte de Argentina han demostrado la interrupción doméstica de infección con *T. cruzi* en perros (9), lo que indica que estos animales pueden ser útiles como centinelas para estimar resultados obtenidos a través del tiempo después de una intervención.

Otros estudios en poblaciones caninas han demostrado altas prevalencias de perros infectados realizando su importancia como reservorio en el ciclo doméstico de *T. cruzi*.

En Venezuela, análisis serológicos y parasitológicos mostraron que de 565 perros examinados, 67,6% presentaron infección con *T. cruzi* (2). En Costa Rica, de 54 perros de localidades rurales con *Triatoma dimidiata* como principal vector, el 27,7% reveló anticuerpos anti-*T. cruzi* (10); en Santiago de Estero, (Argentina) con *Triatoma infestans* como principal vector, un 65% de 83 perros presentaron anticuerpos anti-*T. cruzi* (11); la infección de 28 perros examina-

dos por medio de xenodiagnóstico en un área rural de Brasil, en donde el principal vector es *Panstrongylus megistus*, fue de 18,5 % (7).

Cada familia de la población del área rural de Boyacá, usualmente cohabita con al menos un perro, que además de ser fuente de alimento para los insectos hematófagos, atrae triatominos hacia las viviendas y, en caso de infección con *T. cruzi*, puede representar un factor de riesgo para la población humana. Se ha demostrado una asociación positiva y significativa entre la infección de perros y variables que reflejan la exposición local a insectos infectados (12,13); otro estudio (4, 7), muestra que la probabilidad de estar infectado con el parásito aumenta de tres a cinco veces cuando se convive con animales infectados, en comparación con individuos que viven con animales sin infección.

Prevalencias altas de infección en poblaciones caninas se pueden deber a varias rutas de infección, por contacto con heces infectadas e infección oral, cuando se encuentran vectores atractivos para los perros como el *T. dimidiata* (10,11).

En el presente trabajo se encontraron 28 muestras positivas de un total de 261 analizadas (10,72%) por medio de la técnica IFI, de las cuales 20 resultados correspondieron al municipio de Soatá y ocho al municipio de Berbeo. Se lograron aislar cuatro cepas de *T. cruzi*, tres de ellas caracterizadas como TC I, concordando con hallazgos de aislamientos de cepas de TC I predominante en Colombia.

El conocimiento de la prevalencia de perros infectados con el parásito constituye una herramienta útil para la vigilancia y los programas de control vectorial.

Materiales y métodos

En el municipio de Soatá (6° 19' N; 72° 40' W) se seleccionaron las veredas Hatillo, con un índice de infestación de 26,66% y Espinal con 19, 51% y en el municipio de Berbeo (5° 13' N; 73° 07' W) las veredas Bombita, con un índice de infestación de 28,3% y Batatal con 35,63%. Estudios previos, realizados en el área rural de los municipios de Soatá y Berbeo dentro del Programa Nacional de Prevención y Control contra la Enfermedad de Chagas y la Cardiopatía Infantil en el año 2004, mostraron una seropositividad para *T. cruzi* de 2,5% en niños y de 0,25% en adultos.

Las viviendas en las que se tomaron las muestras de suero de los perros se caracterizaron por tipo de pared, techo, piso y presencia de anexos como gallineros, lugares de almacenamiento, caneyes, corrales etc.

Colección de los sueros: Se tomaron muestras de sangre de 261 perros, 177 de Soatá (96 del Hatillo y 81 de Espinal) y 84 de Berbeo (40 de Batatal y 44 de Bombita). Los sueros se separaron por centrifugación, se diluyeron a 1:1 en glicerina neutral bufferada y se almacenaron a -4 °C hasta su análisis. 185 de ellos se analizaron por IFI y xenodiagnóstico y los 76 restantes sólo por IFI.

Serología: La prueba de IFI se estandarizó probando diluciones de azul de Evans (1:5000, 1:10000, 1:20000) con el conjugado (*Anti-Dog IgG-Alkaline Phosphatase conjugate antibody produced in rabbit*, SIG-MA) en distintas diluciones (1:32, 1:64 y 1:128); un control positivo se obtuvo de un perro infectado experimentalmente con título previamente conocido de 1:1024 y un control negativo de una región no endémica. Una vez determinada la dilución 1:10000 de azul de Evans y 1:64 del conjugado, se estableció el punto de corte en 1:32; títulos mayores o iguales se consideraron positivos para infección con *T. cruzi*. Los sueros se analizaron por IFI dos veces, hasta una dilución de 1:2048 (14, 15, 16). El antígeno se obtuvo de epimastigotes tratados con formaldehído de la cepa X380 de *T. cruzi*, usada como cepa de referencia en el CIMPAT.

Xenodiagnóstico: Se realizaron 185 xenodiagnósticos, 101 en Soatá y 84 de Berbeo. Diez ninfas de quinto estadio de *Rhodnius prolixus* se colocaron sobre el abdomen de cada uno de los perros, verificando la ingestión de sangre de todos los insectos (expuestos a previo ayuno). Posteriormente, las ninfas se mantuvieron con sangre de gallina y se examinaron tres veces, durante 90 días. La infección con *T. cruzi* se determinó por microscopio de luz (400 X).

Caracterización de las cepas de *T. cruzi*: Una porción del espaciador no transcrito del gene miniexon se amplificó por la reacción en cadena de la polimerasa, según la metodología descrita por Fernandes *et al.* (17), utilizando los iniciadores TC1: 5'-GTGTCCGC-CACCTCCTCCGGGCC-3'; TC2: 5'-CCTGCAGG-CACACGTGTGTGTG-3'; TCC: 5'-CCCCCTCC-CAGGCCCACTG-3', produciendo un fragmento de

amplificación de 300 pb para *T. cruzi* II o de 350 pb para *T. cruzi* I (18).

La reacción de amplificación se realizó en un volumen final de 10 μ l, conteniendo 1 μ l 10X de buffer de reacción de la Taq Polimerasa (INVITROGEN), 200 μ M de la mezcla de dNTPs, 3,5 mM de MgCl₂, 25 mM de KCl, 25 μ M de cada iniciador, 0,5 unidades de Taq DNA polimerasa (INVITROGEN) y 5 ng de DNA genómico. La PCR se corrió en un termociclador *Thermal Minicycler M.J. Research*® PTC-150-16, durante 35 ciclos. El perfil de temperaturas para denaturación, anillamiento de los iniciadores y la extensión 95°C por un minuto (tiempo inicial de 5 minutos), 50°C por 30 segundos y 72°C por 30 segundos respectivamente y una extensión final de cinco minutos. Los productos de amplificación se analizaron por electroforesis en geles de poliácridamida al 6%, seguida de coloración con plata.

Análisis de datos: Se realizó una asociación entre las características de las viviendas (tipo de pared, tipo de techo, tipo de piso y presencia de anexos) entre los municipios muestreados por medio del programa Statistix y por medio de análisis de χ^2 y Fisher se buscaron asociaciones entre características de las viviendas y el número de perros positivos.

Resultados

En la tabla 1 se observan los resultados para las 261 muestras analizadas por IFI (Figuras 1 y 2), con un total de 28 positivas (10,72%). También los resultados de los 185 xenodiagnósticos, de los que cuatro resultaron positivos, pero sólo tres por los dos métodos.

De los cuatro xenodiagnósticos positivos se aislaron tres cepas que se caracterizaron molecularmente como *T. cruzi* I (Figura 3).

TABLA 1. Datos de los perros positivos para infección con *T. cruzi* en los municipios de Soatá y Berbeo

Nº perro	Municipio	Vereda	Sexo	Edad (años)	Título de IFI	Xenodiagnóstico
1	Soatá	Hatillo	Macho	3	1/32	-
2	Soatá	Hatillo	Hembra	7	1/128	-
3	Soatá	Hatillo	Macho	3	1/32	-
4	Soatá	Hatillo	Macho	2,5	1/256	-
5	Soatá	Hatillo	Macho	1,5	1/512	-
6	Soatá	Hatillo	Macho	1	1/1024	+
7	Soatá	Hatillo	Macho	2	1/2048	-
8	Soatá	Hatillo	Hembra	6	1/2048	-
9	Soatá	Hatillo	Hembra	4	1/128	-
10	Soatá	Hatillo	Hembra	3	1/128	+
11	Soatá	Hatillo	Macho	2	1/256	-
12	Soatá	Hatillo	Macho	4	1/256	-
13	Soatá	Hatillo	Macho	2	1/256	-
14	Soatá	Hatillo	Macho	3,5	1/512	+
15	Soatá	Hatillo	Macho	3	1/2048	-
16	Soatá	Hatillo	Macho	1,5	Negativo	+
17	Soatá	Espinal	Macho	0,7	1/512	-
18	Soatá	Espinal	Macho	3	1/256	-
19	Soatá	Espinal	Macho	1,5	1/128	-
20	Soatá	Espinal	Macho	3	1/128	-
21	Soatá	Espinal	Hembra	2	1/512	-
22	Berbeo	Bombita	Macho	1,5	1/64	-
23	Berbeo	Bombita	Macho	10	1/128	-
24	Berbeo	Bombita	Macho	4	1/512	-
25	Berbeo	Bombita	Hembra	7	1/128	-
26	Berbeo	Bombita	Macho	0,8	1/2048	-
27	Berbeo	Bombita	Macho	10	1/4096	-
28	Berbeo	Batatal	Hembra	4	1/128	-
29	Berbeo	Batatal	Hembra	4	1/512	-

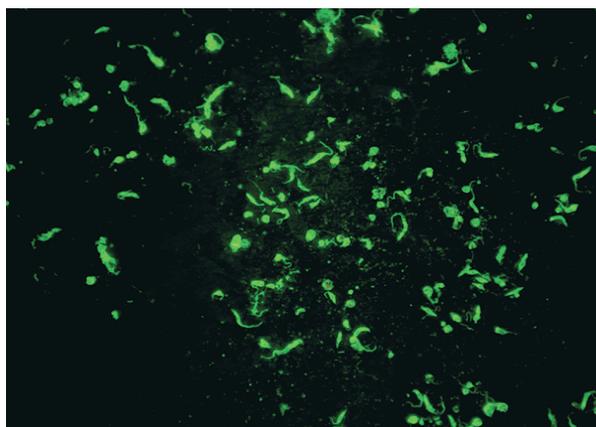


FIGURA 1. Resultado de una IFI positiva.

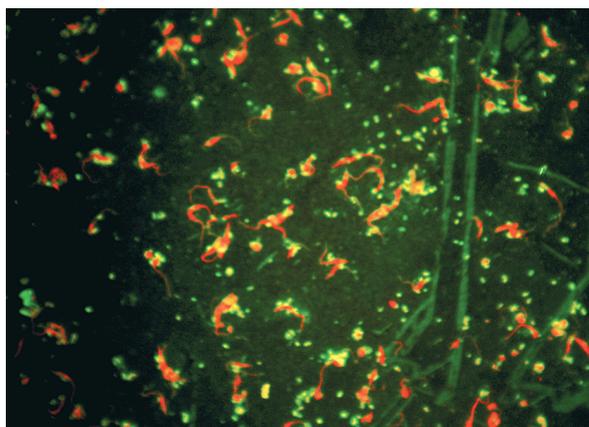


FIGURA 2. Resultado de una IFI negativa.

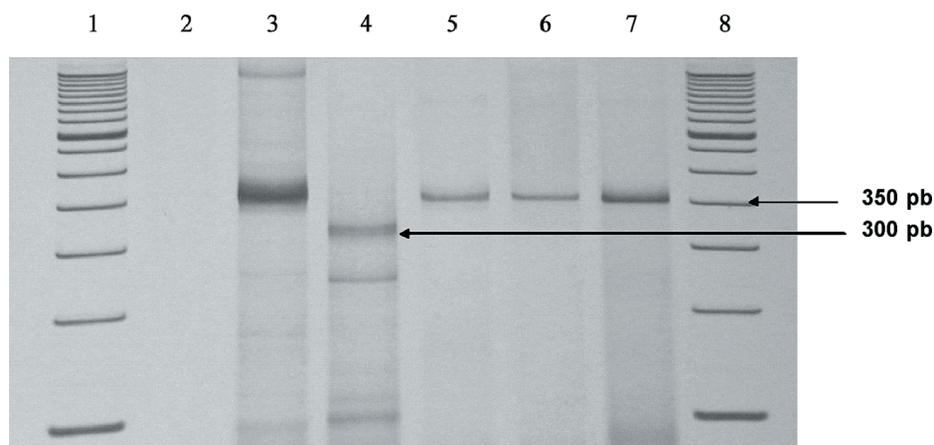


FIGURA 3. Caracterización molecular de tres cepas de perro por medio de una reacción de PCR doble utilizando los primers TC/TC1/TC2. La figura muestra un gel de poliacrilamida al 6% coloreado con nitrato de plata con los productos de amplificación 1: M, marcador de 100 pb ladder (Invitrogen), 2: Control de reacción (Muestra sin ADN), 3: Control de TC1 (Cepa DM12 de *Didelphis marsupialis*), 4: Control TC2 (cepa 167 aislada de humano en Brasil), 5: Cepa H10, 6: Cepa H135, 7: Cepa H89, 8: M100 ladder.

Los resultados de la caracterización de las viviendas de las dos veredas de cada municipio se muestran en las tablas 2 y 3. En todas las encuestas que se realizaron, los habitantes de las viviendas reportaron conocimiento del vector.

Los análisis que comparan las características de las viviendas en los dos municipios mostraron diferencias significativas entre los materiales de construcción caracterizados (tipos de pared, techo y piso): $P \leq 0,001$; $\chi^2 = 10,57$, grados de libertad = 0,001); la madera como material de construcción solo se observó en Berbeo. El número de anexos de la vivienda fue similar en los dos municipios (test de Fisher, $P = 0,05$).

Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre el número de perros positivos para *T. cruzi* y el tipo de pared (test de Fisher, $P \leq 0,05$), tipo de techo (test de Fisher, $P \geq 0,05$) y tipo de piso ($\chi^2 \leq 0,05$, grados de libertad = 1) en los dos municipios, Soatá y Berbeo y para el número de anexos solo se encontró asociación en el municipio de Soatá (test de Fisher $P \leq 0,05$).

Discusión

Los perros son una fuente de alimentación importante para los insectos triatominos (3,7,19,20) y está demostrado que la prevalencia de insectos infectados con *T. cruzi* aumenta, cuando estos se alimentan

TABLA 2. Porcentajes de características de las viviendas del municipio de Soatá

Vereda	Viviendas evaluadas	Habitantes		Tipo de pared			Tipo de techo		Tipo de piso		Anexos
		≤ 3	≥ 4	Adobe/bahareque	Cemento	Piedra	Eternit/zinc	Bahareque barro	Tierra	Cemento/baldosa	Gallinero, caney, trapiche, palomar
Hatillo	37	22 (59,4%)	15 (40,5%)	24 (64,8%)	12 (32,4%)	1 (2,7%)	21 (56,75%)	7 (43,2%)	11 (29,7%)	26 (70,2%)	27 (72,9%)
Espinal	28	17 (60,7%)	11 (39,2%)	16 (57,1%)	11 (39,2%)	1 (3,5%)	21 (75%)	7 (25%)	13 (46,4%)	15 (53,5%)	23 (82,1%)
Total	65	39 (60%)	26 (69,2%)	40 (39,2%)	23 (3,5%)	2 (3,07%)	42 (64,6%)	14 (21,5%)	24 (36,9%)	41 (63%)	50 (76,9%)

TABLA 3. Porcentajes de características de las viviendas del municipio de Berbeo

Vereda	Viviendas evaluadas	Habitantes		Tipo de pared			Tipo de techo		Tipo de piso		Anexos
		≤ 3	≥ 4	Adobe/bahareque	Cemento	Piedra	Eternit/zinc	Madera	Tierra	Cemento/baldosa	Gallinero, caney, trapiche, palomar
Batatal	19	9 (47,3%)	10 (52,6%)	1 (5,2%)	14 (73,6%)	4 (21%)	15 (78,9%)	4 (21%)	3 (15,7%)	16 (84,2%)	13 (68,4%)
Bombital	21	7 (33,3%)	14 (66,6%)	2 (9,5%)	15 (71,4%)	4 (19%)	11 (52,3%)	10 (47,6%)	5 (23,8%)	16 (76,1%)	18 (85,7%)
Total	40	16 (40%)	24 (60%)	3 (7,5%)	29 (72,5%)	8 (20%)	26 (65%)	14 (35%)	8 (20%)	32 (80%)	31 (77,5%)

frecuentemente de perros (21). La prevalencia de infección con *T. cruzi* que se demostró en este trabajo, junto con el hallazgo de infecciones agudas, evidenciadas por el xenodiagnóstico, señalan que en las áreas de estudio, los perros son reservorios que juegan un papel importante en el mantenimiento del ciclo del parásito en el domicilio, con el consiguiente riesgo para el desarrollo de infecciones humanas. Por eso se refuerza la necesidad de implementar estrategias que disminuyan el riesgo de contacto triatomino-perro en áreas endémicas y por consiguiente, las posibilidades de infecciones humana. En Colombia, las medidas de control de vectores de la enfermedad de Chagas aún no plantean acciones sobre los reservorios, tema que se debería tratar teniendo en cuenta que están reportados estudios que confirman el mayor riesgo de la infección humana cuando se convive con animales infectados (4,7).

Son varias alternativas propuestas para evitar infecciones caninas con *T. cruzi*, dentro de ellas el uso de collares impregnados con insecticidas residuales, que también disminuyen el contacto y la infestación domiciliar con los vectores (22,23). Otras alternativas son el uso de medicamentos como el Benzimidazol o Nifurtimox (24-27) o la aplicación vacunas con *T. rangeli* que mostró disminución de la infección de perros retados con *T. cruzi* (26).

El hallazgo de un xenodiagnóstico positivo no concordante con los resultados de IFI se podría explicar por una infección reciente, en la que la respuesta humoral aún no alcanzara niveles significativos de anticuerpos (29-31).

Los resultados de Berbeo, que sólo mostraron positividad para IFI se podrían explicar por la avanzada

edad promedio de los perros muestreados (5-16 años), resultado concordante con estudios realizados en poblaciones caninas de áreas rurales de Argentina (1), en donde se demostró que la prevalencia de infección por *T. cruzi* en perros aumenta con la edad y que la infectividad por su parte, disminuye significativamente cuando la edad aumenta. La ausencia de xenodiagnósticos positivos también se podría relacionar con el hecho de que las viviendas de este municipio presentaban materiales menos aptos para el establecimiento de los insectos, que a su vez disminuye la posibilidad de infección en los animales domésticos (Tabla 3) (8, 19, 32-34). El contraste, la detección de infecciones agudas en los perros de Soatá, concuerda con las diferencias estadísticamente significativas entre los tipos de materiales utilizados para la construcción de las viviendas en los dos municipios.

A pesar de las diferencias en las viviendas de los dos municipios, la prevalencia de perros infectados fue similar, siendo el tipo de pared, techo y piso, características importantes que favorecen la infección canina, hecho que concuerda con un modelo matemático (21), en el que se recalca que el riesgo de infección humana puede disminuir, cuando los perros se marginen fuera del domicilio. Es importante recalcar que los perros pueden adquirir la infección, tanto a partir de las heces contaminadas del vector, como por vía oral (13,14,16), hecho que los hace más susceptibles a las infecciones por *T. cruzi*.

La importancia del aislamiento de TC I en perros radica en que son pocos los estudios que se han realizado en Colombia y porque arroja significativos aportes a la epidemiología y distribución de esta cepa, la que más afecta a la población en esa región. La cepa TC I (correspondiente al zimodemo 1) (35), con una amplia distribución en el país, se ha relacionado con el ciclo silvestre y se ha aislado también de humanos y de otros reservorios (36-39).

Este estudio demuestra que los perros juegan un papel importante como reservorios de *T. cruzi*, aumentando los índices de infección en triatomíneos y al mismo tiempo, aumentando el riesgo de transmisión a las poblaciones humanas. Resalta también la relación entre perros infectados y las características de las viviendas, hecho que ayuda a respaldar el llamado urgente al fortalecimiento de las actividades de vigilancia y control para la enfermedad de Chagas.

Agradecimientos

A la Fundación para la Promoción de la Investigación y la Tecnología del Banco de la República por la financiación del proyecto; a Jimmy Vargas de la Universidad Nacional de Colombia por facilitar el suero de perro control positivo de infección con *T. cruzi* y las ESE Hospital San Antonio de Soatá y ESE Centro de Salud Juan Francisco Berbeo.

Referencias

- Gürtler RE, Cecere MC, Lauricella MA, Cardinal MV, Kitron U, Cohen JE. Domestic dogs and cats as sources of *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. *Parasitology*. 2007;134:69-82.
- Crisante G, Rojas A, Teixeira MM, Añez N. Infected dogs as a risk factor in the transmission of human *Trypanosoma cruzi* infection in western Venezuela. *Acta Trop*. 2006;98(3):247-54.
- Pinto JC. Epidemiología. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. En: Brener Z, Andrade ZA, Barral-Netto M. editores. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.
- Gürtler RE, Chuit R, Cecere MC, Castanera MB, Cohen JE, Segura EL. Household prevalence of seropositivity for *Trypanosoma cruzi* in three rural villages in northwest Argentina: environmental, demographic, and entomologic associations. *Am J Trop Med Hyg*. 1998;59(5):741-749.
- Gürtler RE, Cohen JE, Cecere MC, Lauricella MA, Chuit R, Segura EL. Influence of humans and domestic animals on the household prevalence of *Triatoma infestans* populations in Norwest Argentina. *Am J Trop Med Hyg*. 1998;58:748-758.
- Gürtler RE, Cécere MC, Peterson RM, Rubel DN, Schweigmann NJ. Chagas disease in north-west Argentina: association between *Trypanosoma cruzi* parasitemia in dogs and cats and infection rates in domestic *Triatoma infestans*. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1993;87:12-15.
- Mott KE, Mota EA, Sherlock I, Hoff R, Muniz TM, Oliveira TS, et al. *Trypanosoma cruzi* infection in dogs and cats and household seroreactivity to *T. cruzi* in a rural community in northeast Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 1978;27(6):1123-1127.
- Campbell-Lendrum DH, Angulo VM, Esteban L, Tarazona Z, Parra GJ, Restrepo M, et al. House-level risk factors for triatomine infestation in Colombia. *Int J Epidemiol*. 2007;36(4):866-72.
- Gürtler RE, Kitron U, Cecere MC, Segura EL, Cohen JE. Sustainable vector control and management of Chagas disease in the Gran Chaco, Argentina. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(41):16194-9.
- Montenegro VM, Jiménez M, Pinto JC, Zeledón R. Chagas disease in dogs from endemic areas of Costa Rica. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;97(4):491-494.
- Castañera MB, Lauricella MA, Chuit R, Gurtler RE. Evaluation of dogs as sentinels of the transmission of *Trypanosoma cruzi* in a rural area of north-western Argentina. *Ann Trop Med Parasitol*. 1998;92(6):671-83.
- Cardinal MV, Lauricella MA, Marcet PL, Orozco MM, Kitron U, Gürtler RE. Impact of community-based vector control on house infestation and *Trypanosoma cruzi* infection in *Triatoma infestans*, dogs and cats in the Argentine Chaco. *Acta Trop*. 2007;103(3):201-11.

13. Cardinal MV, Castañera MB, Lauricella MA, Cecere MC, Ceballos LA, Vazquez-Prokopec GM, et al. A prospective study of the effects of sustained vector surveillance following community-wide insecticide application on *Trypanosoma cruzi* infection of dogs and cats in rural Northwestern Argentina. *Am J Trop Med Hyg.* 2006;75(4):753-61.
14. Lauricella MA, Castañera MB, Gürtler RE, Segura EL. Immunodiagnosis of *Trypanosoma cruzi* (Chagas' disease) infection in naturally infected dogs. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1998;93(4):501-507.
15. Lauricella MA, Wisnivesky-Colli C, Gürtler RE, Petersen R, Bujas M, Segura EL. Standardization of serological test for detecting anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies in dogs. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1993;88(3):413-417.
16. Lauricella MA, Sinagra AJ, Paulone I, Riarte AR, Segura EL. Natural *Trypanosoma cruzi* infection in dogs of endemic areas of the Argentine Republic. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1989;31(2):63-70.
17. Fernandes O, Santos SS, Cupolillo E, Mendoca B, Derre R, Junqueira ACV, et al. A mini-exon multiplex polymerase chain reaction to distinguish the major groups of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Brazilian Amazon. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2001;95:97-99.
18. 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.
19. Tabaru Y, Monroy C, Rodas A, Mejía M. Chagas' disease vector surveillance in various residences in Santa Maria Ixhuatan, Department of Santa Rosa, Guatemala. *Med Entomol Zool.* 1999;50(1):19-25.
20. Christensen HA, Sousa OE, de Vasquez AM. Host feeding profiles of *Triatoma dimidiata* in peridomestic habitats of western Panama. *Am J Trop Med Hyg.* 1988;38(3):477-9.
21. Cohen JE, Gürtler RE. Modeling household transmission of American trypanosomiasis. *Science.* 2001;293(5530):694-8.
22. Reithinger R, Ceballos L, Stariolo R, Davies CR, Gürtler RE. Extinction of experimental *Triatoma infestans* populations following continuous exposure to dogs wearing deltamethrin-treated collars. *Am J Trop Med Hyg.* 2006;74(5):766-71.
23. Reithinger R, Ceballos L, Stariolo R, Davies CR, Gürtler RE. Chagas disease control: deltamethrin-treated collars reduce *Triatoma infestans* feeding success on dogs. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2005;99(7):502-8.
24. Barr SC, Warner KL, Kornreic BG, Piscitelli J, Wolfe A, Benet L, et al. A cysteine protease inhibitor protects dogs from cardiac damage during infection by *Trypanosoma cruzi*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005; 49(12):5160-5161.
25. Guedes PM, Urbina JA, de Lana M, Afonso LC, Veloso VM, Tafuri WL, et al. Activity of the new triazole derivative albaconazole against *Trypanosoma* (Schizotrypanum) *cruzi* in dog hosts. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48(11):4286-92.
26. Guedes PM, Veloso VM, Tafuri WL, Galvão LM, Carneiro CM, Lana M, et al. The dog as model for chemotherapy of the Chagas' disease. *Acta Trop.* 2002;84(1):9-17.
27. Andrade SG., Andrade ZA., Sadigursky M. Combined treatment with a nitrofuranic and a corticoid in experimental Chagas' disease in the dog. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1980; 29(5):766-773.
28. Basso B, Castro I, Introini V, Gil P, Truyens C, Moretti E. Vaccination with *Trypanosoma rangeli* reduces the infectiousness of dogs experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. *Vaccine.* 2007;25(19):3855-8.
29. Reyes L, Silesky E, Cerdas C, Chinchilla M, Guerrero O. Presencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en perros de Costa Rica. *Parasitol Latinoam.* 2002;57(12):66-68.
30. Machado MM, Fernandez AJ, Murta SF, Vitor RA, Camilo DJ Jr, Pinheiro SW, et al. A study of experimental reinfection by *Trypanosoma cruzi* in dogs. *Am J Trop Med Hyg.* 2001;65(6):958-965.
31. Lana M, Vieira LM, Machado-Coelho GL, Chiari E, Veloso VM, Tafuri WL. Humoral response in dogs experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1991;86(4):471-73.
32. WORLD HEALTH ORGANIZATION - Control of Chagas' Disease. Report of a WHO expert committee. Geneva. WHO technical Report Series. 2002:37-40.
33. Schofield C. *Triatominae: Biology and Control.* West Sussex: Eurocommunica Publications. 1994.
34. WORLD HEALTH ORGANIZATION - Control of Chagas' Disease: report of a WHO expert committee. Wld Hlth Org Techn. Rep. Ser. 1991;811:12-19.
35. Souto RP, Fernandez O, Macedo AM, Campbell DA, Zingales B. DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasitol.* 1996;83(2):141-52.
36. Herrera C, Barges MD, Fajardo A, Montilla M, Triana O, Vallejo GA, et al. Identifying four *Trypanosoma cruzi* I isolate haplotypes from different geographic regions in Colombia. *Infection Genetics and Evolution.* 2007;7(4):535-9.
37. Devia GFL. Caracterización bioquímica de cepas de *Trypanosoma cruzi* del departamento de Santander y otros departamentos. [Tesis]. Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias: Universidad de los Andes. Bogotá. 1999.
38. Builes JJ, Mejía E, Moreno J, Jaramillo N. Characterization of colombian sylvatic *Trypanosoma cruzi* based on RAPD and dimorphism of both rRNA and mini-exon gene sequences. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1998;391:102.
39. Sánchez JL, Carranza MJC, Gualtero D, Jaramillo JC, Guhl F, Marinkelle CJ, et al. Aplicación de la reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para el diagnóstico y caracterización de *Trypanosoma cruzi* y *T. rangeli* en reservorios naturalmente infectados en un área endémica del Departamento del Tolima. XV Congreso Colombiano de Medicina Interna. *Acta Med Col.* 1998;23(4):241.