

Epidemiología molecular de *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma rangeli* en Colombia y en América

Gustavo Adolfo Vallejo¹ · Julio César Carranza¹ · Felipe Guhl²

Resumen

*Como resultado del desarrollo de novedosas técnicas de biología molecular ha sido posible el estudio de la epidemiología de varios parásitos con enfoques metodológicos que han permitido la caracterización e identificación de sub-poblaciones genéticamente definidas, las cuales en algunos casos pueden ser asociadas con las diferentes formas clínicas de la enfermedad. Una consecuencia directa de estos nuevos enfoques metodológicos es la redefinición de la sistemática de muchos parásitos de importancia médica. Por otro lado, la caracterización molecular de las sub-poblaciones del parásito genera información de gran importancia aplicable a las estrategias de control o la selección de candidatos para el desarrollo de vacunas sintéticas o recombinantes como en el caso de la malaria. *Trypanosoma cruzi*, el agente causal de la enfermedad de Chagas en América se encuentra distribuido entre México y Argentina en donde se estima la existencia de 16-18 millones de personas infectadas, de las cuales, entre el 15-30% de ellas desarrollan cardiopatías o alteraciones digestivas. *Trypanosoma rangeli* es el segundo tripanosoma que infecta al hombre principalmente en Colombia, Venezuela y los países centroamericanos en donde los vertebrados y los insectos vectores o triatomíneos, se encuentran infectados con las dos especies de tripanosomas. En el presente artículo se presentan varios resultados de investigaciones sobre epidemiología molecular de *Trypanosoma cruzi* y *T. rangeli* y algunos de sus más importantes vectores en Colombia, estudios estos realizados con el apoyo del Programa Nacional para la Prevención de la Transmisión de la Enfermedad de Chagas y la Cardiopatía Infantil en Colombia del Ministerio de Salud, de COLCIENCIAS, del TDR/OMS y de la ECLAT. También se señala la importancia de estas metodologías aplicables a otras parasitosis o agentes infecciosos para generar información útil a las estrategias de control y vigilancia epidemiológica.*

¹Laboratorio de Investigaciones en Parasitología Tropical. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad del Tolima. A.A. No. 546. Ibagué, Tolima.

²Centro de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Tropical (CIMPAT). Universidad de los Andes. A.A. No. 4976. Bogotá.

Introducción

El objetivo central de la epidemiología de las enfermedades parasitarias es la comprensión de la interacción dinámica entre el parásito, el huésped y el ambiente. El estudio cualitativo y cuantitativo de tales interacciones, los mecanismos que regulan las vías a través de los cuales un parásito dado es transmitido de un huésped a otro, la influencia de estas interacciones en la dispersión de la enfermedad dentro y entre poblaciones susceptibles, son importantes elementos para la documentación de la epidemiología de una enfermedad parasitaria dada.

Uno de los problemas primarios de la epidemiología parasitaria, es la correlación entre los síntomas de la enfermedad con la presencia del agente causal en el huésped afectado. Es importante confirmar que la presencia del parásito sea responsable del desencadenamiento de los síntomas característicos de la enfermedad. En la gran mayoría de las parasitosis humanas, esta asociación queda claramente establecida. Por ejemplo en la leishmaniasis tegumentaria las úlceras de la piel constituyen una consecuencia directa de la presencia de los parásitos (amastigotes) como agente causante de la lesión. En contraste la asociación entre el parásito y los síntomas de la enfermedad puede ser más compleja, como es el caso de *Trypanosoma cruzi*, el agente causal de la enfermedad de Chagas en América. Aquí, los parásitos en diferentes regiones geográficas infectan a los humanos produciendo un espectro variable de formas clínicas de la enfermedad. Estas diferencias regionales de la enfermedad de Chagas han sido reportadas desde hace varios años por varios grupos de investigación. Se reconoce que las formas digestivas de la enfermedad son raramente detectadas al norte de la línea del Ecuador como en Colombia, Venezuela y los países centroamericanos y que la cardiopatía chagásica crónica es más grave en el sudeste y centro del Brasil que en el resto de los países suramericanos y centroamericanos. Dentro de Brasil, la enfermedad de Chagas presenta mayor morbilidad en el Estado de Minas Gerais que en el resto del país. En Bolivia, aunque la cardiopatía chagásica es uniforme, la esofagopatía predomina en las regiones más bajas del país y la colonopatía predomina en el altiplano (Pinto Dias, 2000). En Colombia la enfermedad de Chagas constituye una de las mayores causas de incapacidad en la población económicamente activa. Un estudio reciente sobre la morbilidad de la enfermedad en individuos que habitan regiones endémicas, mostró que cerca del 20% de los pacientes diagnosticados, que presentan serología positiva para *T. cruzi*, presentaron también la patología, principalmente relacionada con la afección cardíaca (Beltrán *et al.*,

2001). Varios factores epidemiológicos han sido señalados como responsables de las diferencias en las formas clínicas de la enfermedad de Chagas, se han destacado la cepa y la composición genética del parásito, la composición genética del triatomino vector, factores étnicos y factores genéticos relacionados con la respuesta inmune del huésped y factores ambientales.

Como consecuencia de lo anterior, los epidemiólogos de los diferentes países latinoamericanos, estudian los componentes que influyen en la transmisión de *T. cruzi* incluyendo la identificación y la densidad de los reservorios, la identificación, la dispersión y la genética de los vectores domiciliados y no domiciliados, los estudios de la genética y virulencia de las cepas de *T. cruzi* y los cambios ambientales y sociopolíticos que puedan contribuir en la dispersión de los vectores y en la transmisión de *T. cruzi*.

Durante los últimos 25 años, grupos de investigación en diferentes países latinoamericanos, han mostrado una extensa variabilidad bioquímica, genética y molecular de las poblaciones de *T. cruzi*, el agente causal de la enfermedad de Chagas y de *T. rangeli*, una especie aparentemente no patógena para el humano, muy frecuente en infecciones mixtas con *T. cruzi* en Colombia, Venezuela y en los países centroamericanos (D'Alessandro, 1976; Marinkelle, 1966). Adicionalmente, algunos triatominos vectores de estos flagelados, también han mostrado variabilidad biológica, bioquímica, genética y molecular. Asumiendo que la variabilidad de los parásitos (*T. cruzi* y *T. rangeli*) y de sus principales especies vectoras podría explicar en parte algunas de las diferencias en la presentación de las formas clínicas de la enfermedad de Chagas en América, nuestro grupo de investigación ha orientado sus esfuerzos para resolver entre otros los siguientes interrogantes:

¿Existen una o más variantes genéticas de *T. cruzi* que puedan correlacionarse con las formas clínicas de la enfermedad de Chagas en Colombia?

¿Cuáles vectores o reservorios albergan dichas variantes genéticas de *T. cruzi*?

¿Existen en Colombia una o más variantes genéticas de *T. rangeli* que puedan producir infecciones humanas?

¿Cuáles vectores o reservorios transportan dichas variantes genéticas de *T. rangeli*?

¿Cuáles interacciones pueden ser detectadas entre los diferentes vectores y las sub-poblaciones de *T. cruzi* y *T. rangeli* en Colombia?

A continuación se describen algunos de los resultados asociados a los interrogantes anteriormente mencionados:

Caracterización molecular de *Trypanosoma cruzi*.

Un importante avance en la caracterización bioquímica de *T. cruzi* fue realizado por Miles *et al.*, (1978, 1980), quienes utilizaron electroforesis de isoenzimas para analizar cerca de 250 aislados de *T. cruzi*, consiguiendo diferenciar grupos denominados zimodemos Z1, Z2 y Z3. Estos investigadores observaron que la gran mayoría de los aislados clasificados como Zimodemo 2 pertenecían al ciclo doméstico, causando enfermedad aguda y crónica en humanos e infectando reservorios domésticos. De la misma manera, la mayoría de los aislados caracterizados como zimodemo 1 y zimodemo 3, están asociados al ciclo silvestre de transmisión. Los pocos trabajos de caracterización por isoenzimas realizados en Colombia, han mostrado que las cepas de *T. cruzi* estudiadas corresponden a los zimodemos 1 y 3 (Devia, 1999; Triana *et al.*, 1999). Recientemente, Souto y Zingales (1993), estudiando *T. cruzi* de diferentes orígenes geográficos, lograron dividirlos en dos grupos mediante amplificación por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de genes ribosomales. Posteriormente Souto *et al.*, 1996, caracterizan aislados del parásito provenientes de humanos, triatomínicos y animales infectados naturalmente procedentes de varios países suramericanos y utilizando la amplificación por PCR de las secuencias de la región intergénica del gen mini-exón lograron la identificación de dos grupos actualmente denominados *T. cruzi I* (correspondiente a zimodemo I) y *T. cruzi II* (correspondiente al zimodemo II) (Ver figura 1).

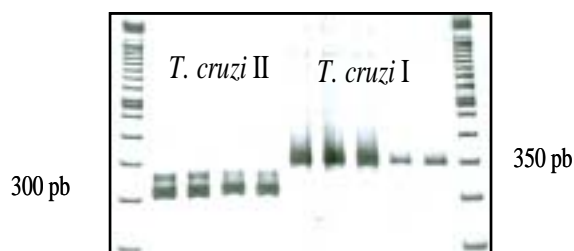


Figura 1. Caracterización molecular de *T. cruzi*. Las muestras del contenido intestinal de los insectos vectores, positivas para *T. cruzi* por Observación Microscópica Directa son sometidas en nuestro laboratorio a amplificación utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de la región espaciadora intergénica del gen mini-exón de *T. cruzi*. Al analizar el resultado del PCR, una banda de DNA de 300 pb es específica para *T. cruzi II* y una banda de DNA de 350 pb, es específica para *T. cruzi I*. La figura muestra un gel de acrilamida coloreado con nitrato de plata en donde se observan los productos de amplificación de nueve muestras analizadas, cuatro correspondientes a *T. cruzi II* y cinco correspondientes a *T. cruzi I*.

La ventaja de estas estrategias es que con el uso de la reacción en cadena de la polimerasa es posible la caracterización molecular del parásito en menos de 12 horas mientras que la caracterización por electroforesis de isoenzimas puede demandar hasta tres meses debido a la necesidad de cultivar masivamente al parásito.

La mayoría de las cepas de *T. cruzi II* han sido aisladas de pacientes con enfermedad de Chagas crónica en los países del cono sur de Latinoamérica y se ha asociado al ciclo doméstico de transmisión; mientras que el *T. cruzi I* se ha asociado al ciclo silvestre. En Colombia, se han realizado varios estudios aplicando la misma metodología sobre DNA extraído de formas de cultivo de *T. cruzi* con los siguientes resultados: Builes *et al.*, (1998), analizaron 36 cepas colombianas; una aislada de humano; 3 aisladas de zarigüeyas (*Didelphis marsupialis*); 1 aislada de ratón silvestre; 8 aisladas del insecto vector *Rhodnius prolixus*; 12 aisladas del vector *Rhodnius pallescens*; 7 aisladas del vector *Panstrongylus geniculatus*; 3 aisladas del vector *Eratyrus cuspidatus* y 1 aislada del vector *Triatoma dispar*. Todas, fueron caracterizadas como *T. cruzi I*. Sánchez *et al.*, (1998) analizaron 31 cepas aisladas por hemocultivo de *D. marsupialis*, todas pertenecientes a *T. cruzi I*. Devia (1999) estudió 20 cepas aisladas por hemocultivo de humanos de 5 departamentos de Colombia y en su totalidad correspondieron a *T. cruzi I*. En resumen sobre la base de estos trabajos se puede concluir que en los países del cono sur predomina el *T. cruzi II* en los humanos, mientras que en los países de la región norte de América del Sur, predomina el *T. cruzi I* en las infecciones humanas (Ver figura 2).

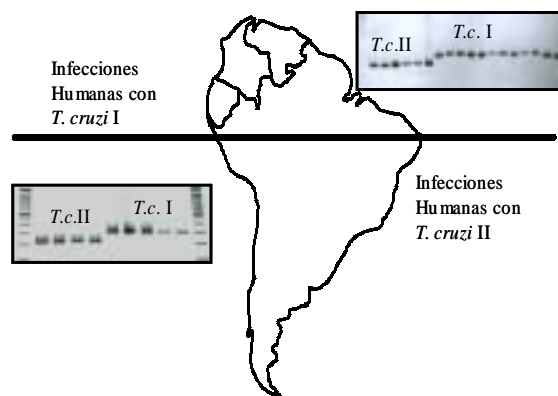


Figura 2. Epidemiología molecular de *Trypanosoma cruzi* en América. En los países situados al norte de la cuenca del río Amazonas, predominan las infecciones humanas con *T. cruzi I*. Por el contrario en los países situados al sur de la cuenca del río Amazonas, predominan las infecciones humanas con *T. cruzi II*. La figura muestra dos gels de poli-acrilamida coloreados con nitrato de plata en donde se observan los productos de PCR de *T. cruzi I* y de *T. cruzi II*.

Teniendo en cuenta las ventajas del uso de la reacción en cadena de la polimeras, decidimos aplicar la técnica para caracterizar molecularmente a múltiples aislados de *T. cruzi* obtenidos directamente del contenido intestinal de 150 vectores silvestres (*Rhodnius colombiensis*) colectados en el municipio de Coyaima (Tolima), en las veredas de Totarco Dinde, Totarco Tamarindo, Totarco Piedras, Chenche-Agua fría y Buena Vista y 777 *Rhodnius prolixus*, 455 *Triatoma dimidiata* y 190 *Triatoma maculata* colectados en las localidades de Zetaquirá, Moniquirá, Campo Hermoso, Berbeo, Guayatá, Chitaraque, La Uvita, Buavita, Sutatenza, San Mateo, Chiscas, Covarachía, Tipacoque, Soatá, San Eduardo, Sativa, Cubará, Guateque, Garagoa y Pachavita en el departamento de Boyacá; Medina en el departamento de Cundinamarca y Maní, Libertad, Paz de Ariporo y Yopal en el departamento de Casanare. Los resultados fueron realmente interesantes. A la luz de los trabajos previos realizados a partir de las formas de cultivo de *T. cruzi*, se esperaba que las cepas de *T. cruzi* detectadas en el intestino de los vectores domésticos y silvestres correspondieran a *T. cruzi* I. Sin embargo, en este estudio, utilizando como blanco de amplificación para la PCR, el DNA extraído directamente del contenido intestinal de los vectores, se logró detectar el 1,75% de las muestras provenientes de vectores silvestres infectados con *T. cruzi* II; 5,26% de los vectores fueron encontrados infectados con los dos grupos del parásito y considerados como infecciones mixtas de *T. cruzi* I y II y el 93% de los vectores de este ciclo de transmisión infectados con *T. cruzi* I, por tanto, la presencia de vectores silvestres infectados con *T. cruzi* II alcanzó el 7,0%. En los vectores del ciclo doméstico de transmisión y aplicando la misma metodología, fueron detectados el 79,7% de los insectos positivos infectados con *T. cruzi* I; el 6,74% infectados con *T. cruzi* II y el 13,5% infectados con ambos grupos del parásito y considerados como infecciones mixtas *T. cruzi* I y II. Finalmente, la presencia de vectores domésticos infectados con *T. cruzi* II alcanzó el 20,24%.

Los anteriores resultados plantean nuevos interrogantes, pues hasta el momento las cepas aisladas a partir de reservorios y de humanos en Colombia, han sido caracterizadas como *T. cruzi* I. ¿Por qué las cepas de *T. cruzi* II detectadas en el intestino de los vectores domésticos o silvestres, no son transmitidas a los humanos o reservorios?. De conformidad con el interrogante anterior, se derivan varias hipótesis de trabajo que será necesario analizar en un futuro inmediato. Por un lado el vector (*Rhodnius prolixus*, *R. colombiensis*, *T. dimidiata*, etc.), podría ser un filtro biológico que selecciona solamente las cepas de *T. cruzi* I para ser transmitidas al huésped vertebrado. Por otro lado,

debe existir algún reservorio silvestre como fuente de infección de *T. cruzi* II para la complicada trama de ciclos de transmisión de *T. cruzi* en la naturaleza. Dicho reservorio sería la fuente de infección directa o indirecta de *T. cruzi* II para los *R. prolixus* o *R. colombiensis* examinados en este trabajo. Varios proyectos de investigación se encuentran en desarrollo en nuestro laboratorio, con miras a responder estos interrogantes.

Caracterización molecular de *Trypanosoma rangeli*.

Trypanosoma rangeli es un parásito que llama la atención por ser patógeno para el vector pero apatógeno para el huésped vertebrado. Adicionalmente en varios países de Latinoamérica *T. rangeli* es simpátrico con *T. cruzi*, produciendo infecciones simultáneas en el hombre, en los animales domésticos, silvestres y en los vectores (D'Alessandro, 1976; D'Alessandro & Gore-Saravia, 1992; Marinkelle, 1966). Una de las características más sobresalientes de *T. rangeli* es su desarrollo extra-intestinal el cual ha sido estudiado por numerosos investigadores y se sabe que en los triatomos susceptibles, el parásito invade la hemolinfa y las glándulas salivares siendo transmitido por la picadura del insecto (método inoculativo). La infección también puede ser transmitida a través de las heces del vector (método contaminativo), no obstante, se considera que el método inoculativo es más eficiente (D'Alessandro & Gore Saravia, 1999).

Además de los aspectos básicos de la biología de *T. rangeli*, son varias las razones adicionales que motivan la investigación de este parásito. Una de ellas es que en países como Colombia, Venezuela, la región norte de Brasil y del Perú y en varios países de América Central, el hombre, los reservorios y los triatomos vectores se encuentran infectados con *T. cruzi* y *T. rangeli*. Consecuentemente con lo anterior, es prioritaria la diferenciación de las infecciones con *T. cruzi* a través de técnicas usuales para el diagnóstico serológico o molecular, pues la presencia simultánea de estas dos especies en los vertebrados y en los vectores pueden comprometer seriamente la sensibilidad y la especificidad de las técnicas para la detección de *T. cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas (Guhl & Marinkelle, 1982). Otro aspecto llamativo de la biología de *T. rangeli* que intriga a varios investigadores, es la posible interacción con *T. cruzi* en el vector o en el vertebrado, pues en este sentido, varios grupos intentan aclarar si la presencia simultánea de *T. rangeli* y de *T. cruzi* puede modificar el curso de la infección o de la enfermedad de Chagas en el hospedero vertebrado.

Durante varias décadas los investigadores han

detectado variabilidad en el comportamiento biológico de las poblaciones de *T. rangeli* de diferentes orígenes geográficos. Tratando de comprender esta variabilidad biológica se han aplicado técnicas bioquímicas y moleculares para la caracterización de estas poblaciones. Así por ejemplo los estudios de minisatélites de DNA de *T. rangeli* mostraron diferencias genéticas entre las cepas de Santa Catarina y las aisladas en Honduras, Colombia y Venezuela (Macedo *et al.*, 1993). Por otro lado, Vallejo *et al.*, (1994) analizaron los polimorfismos del DNA mitocondrial, encontrando que una clase de DNA mitocondrial denominada KP1, fue detectada solamente en las cepas de *T. rangeli* aisladas en Colombia, Honduras y Venezuela pero no en las cepas aisladas en Santa Catarina al sureste de Brasil. Una divergencia genética similar entre estos mismos dos grupos fue mostrada por Steindel *et al.*, (1994) usando electroforesis de isoenzimas y amplificación aleatoria de regiones de DNA usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Recientemente en Colombia se han detectado dos grupos de *T. rangeli* molecularmente diferentes. Un grupo de cepas aisladas de *Rhodnius prolixus* presenta tres clases de DNA mitocondrial cuyas moléculas son denominadas KP1, KP2 y KP3, mientras que las cepas aisladas de *R. colombiensis* presentan solamente dos clases denominadas KP2 y KP3. Esta diferencia molecular ha sido evidenciada mediante la reacción en cadena de la polimerasa o PCR dúplex (Ver figura 3) y técnicas de hibridación

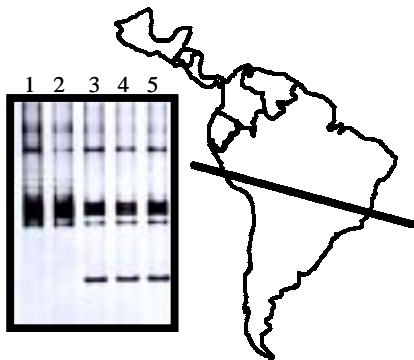


Figura 3. Distribución geográfica de *Trypanosoma rangeli* en América. Las infecciones naturales de *T. rangeli* en humanos, reservorios y vectores se han registrado desde el sur de México, en la península de Yucatán, hasta el sur de Brasil, en Santa Catarina. Los estudios bioquímicos y moleculares han mostrado la existencia de dos sub-poblaciones genéticamente definidas adaptadas a los ciclos de transmisión doméstica y silvestre en los diferentes países latinoamericanos. En nuestro laboratorio estas sub-poblaciones se han identificado a través de la amplificación del DNA mitocondrial mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La figura muestra un gel de acrilamida coloreado con nitrato de plata, en donde aparecen los productos de PCR a partir del DNA de los parásitos. Las canaletas 1 y 2 corresponden a *T. rangeli* KP1(-) y las canaletas 3, 4 y 5 corresponden a *T. rangeli* KP1(+).

en más de 40 cepas. (Vallejo *et al.*, 1997a, 1997b; Catañeda *et al.*, 1998; Guhl & Vallejo, 1999; Vallejo *et al.*, 2000; Vallejo *et al.*, 2001). Adicionalmente Gualtero *et al.*, (1998), utilizando análisis de amplificación aleatoria de DNA, técnica conocida con el nombre de RAPD, mostraron una clara divergencia genética entre estas mismas cepas KP1(+) aisladas de *R. prolixus* y KP1(-) aisladas de *R. colombiensis*.

De conformidad con la divergencia genética detectada entre las cepas de *T. rangeli*, actualmente adelantamos la caracterización biológica y genética de estas cepas molecularmente definidas en relación con la infectividad para el vector y el hospedero vertebrado con la finalidad de contribuir al entendimiento del estatus taxonómico de este parásito.

El papel de *Rhodnius prolixus* y *Rhodnius colombiensis* en la transmisión de sub-poblaciones de *T. rangeli* KP1(+) y KP1(-)

Nuestra hipótesis sobre el papel de los vectores como filtros biológicos en la transmisión de sub-poblaciones genéticamente definidas de *T. cruzi* o de *T. rangeli* resultó fortalecida una vez se tuvo la oportunidad de examinar a 150 *R. colombiensis* y a 777 *R. prolixus* los cuales fueron disecados individualmente. A los individuos positivos para *T. rangeli*, se aplicó la reacción en cadena de la polimerasa al DNA extraído de los flagelados del intestino, hemolinfa y glándulas salivares, para identificar las sub-poblaciones de *T. rangeli* KP1(+) y KP1(-). Los resultados aparecen consignados en las figuras 4 y 5.

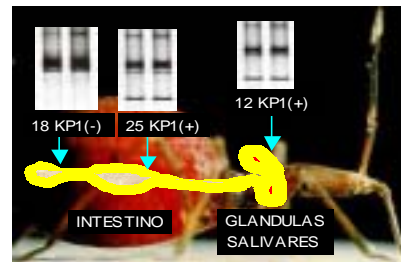


Figura 4. Resultado del examen de 777 *Rhodnius prolixus* para la caracterización molecular de *Trypanosoma rangeli*. Las infecciones detectadas en el intestino y en las glándulas salivares, fueron sometidas a una reacción de PCR dúplex que permite la detección de dos poblaciones genéticamente definidas, denominadas como KP1(+) y KP1(-). La figura muestra una fotografía de una ninfa de *R. prolixus* sobre la cual se resumen los resultados obtenidos. Se detectaron 18 infecciones con *T. rangeli* KP1(-) y 25 infecciones con KP1(+) en el intestino, cuyos perfiles de amplificación se muestran en los geles de poliacrilamida. Como se sabe, los parásitos deben pasar del intestino a la hemolinfa y después a las glándulas salivares. Las 12 infecciones detectadas en las glándulas salivares presentaron el perfil de amplificación KP1(+), indicando el movimiento selectivo desde el intestino hacia las glándulas salivares de estas sub-poblaciones del parásito.

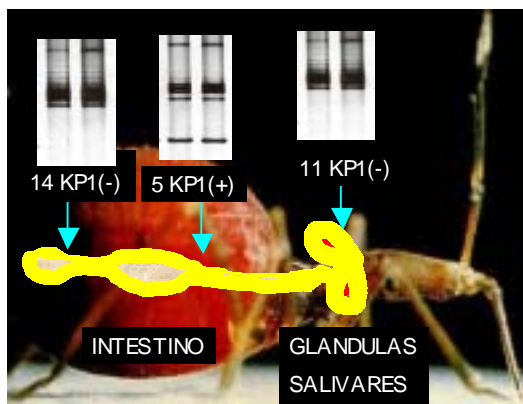


Figura 5. Resultado del examen de 150 *Rhodnius colombiensis* para la caracterización molecular de *Trypanosoma rangeli*. Las infecciones detectadas en el intestino y en las glándulas salivares, fueron sometidas a una reacción de PCR dúplex para la detección de las dos poblaciones KP1(+) y KP1(-). La figura muestra una fotografía de una ninfa de *R. colombiensis* sobre la cual se resumen los resultados obtenidos. Se detectaron 14 infecciones con *T. rangeli* KP1(-) y 5 infecciones con KP1(+) en el intestino, cuyos perfiles de amplificación se muestran en los gels de poliacrilamida. Las 11 infecciones detectadas en las glándulas salivares presentaron el perfil de amplificación KP1(-), indicando también en este caso el movimiento selectivo desde el intestino hacia las glándulas salivares de las cepas KP1(-) solamente.

Estos resultados señalan que los individuos de *R. colombiensis* pueden infectarse con sub-poblaciones de *T. rangeli* KP1(-) y KP1(+), pero solo transmiten a través de la picadura a las sub-poblaciones KP1(-). De igual manera los individuos de *R. prolixus*, se infectan con sub-poblaciones de *T. rangeli* KP1(-) y KP1(+), pero solo transmiten a través de la picadura a las sub-poblaciones KP1(+)

Conclusiones

Uno de los grandes aportes de la biología molecular durante las dos últimas décadas ha sido la identificación de marcadores genéticos o moleculares a nivel del genoma de los organismos, de manera que poblaciones morfológicamente indistinguibles han resultado constituidas por sub-poblaciones cuya divergencia genética en algunos casos amerita su ubicación en taxones diferentes. *Trypanosoma cruzi* es un ejemplo en el cual los parásitos, aislados en diferentes países de América Latina, son morfológicamente indistinguibles, sin embargo, utilizando diferentes técnicas moleculares es posible identificar dos sub-poblaciones denominadas *T. cruzi* I y *T. cruzi* II, las cuales son genéticamente tan divergentes que de acuerdo al consenso de muchos parasitólogos representarían dos especies diferentes. Esta situación explicaría en parte la enorme diferencia en las manifestaciones clínicas de la enfermedad de Chagas entre los países

situados al norte y al sur de la cuenca del río Amazonas. Una situación semejante sucede con *T. rangeli*, especie en la cual nuestro grupo de investigación ha identificado dos sub-poblaciones aisladas en ciclos de transmisión doméstica y silvestre denominados KP1(+) y KP1(-) respectivamente.

La ventaja de la caracterización molecular mediante técnicas de amplificación por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), radica en la simplicidad y sensibilidad de la técnica que permite el análisis de un elevado número de *loci* y de muestras en un tiempo muy corto. Por otro lado es posible con estas metodologías identificar las rutas y vías de transmisión del parásito, lo que equivale a conocer de manera más específica la epidemiología del parásito. Resulta interesante la comprobación del papel de los vectores en la selección de las sub-poblaciones que transmiten, en tal sentido Aguiar *et al.*, (2000) en el Brasil, utilizando análisis de microsatélites de DNA comprobaron la selección de *T. cruzi* I o *T. cruzi* II cuando se estudió su dinámica de transmisión en los vectores *Rhodnius neglectus* y *Triatoma infestans*. Los resultados de nuestro grupo de investigación soportan la hipótesis que *R. prolixus* en Colombia constituye un componente biológico definitivo para la selección de *T. cruzi* I para los humanos y para los reservorios. Un argumento a favor de esta hipótesis ha sido la comprobación de la selección de sub-poblaciones de *T. rangeli* KP1(+) y KP1(-) por parte de *R. prolixus* y *R. colombiensis*.

Todavía subyacen varios interrogantes sobre la epidemiología de *T. cruzi* y *T. rangeli* en América, los cuales están siendo abordados por diferentes grupos de investigación utilizando técnicas de biología molecular. En este mismo sentido se espera que la biología molecular permita la comprensión fina y detallada de la epidemiología de importantes parasitosis como leishmaniasis, malaria, otras enfermedades transmitidas por vectores como dengue, fiebre amarilla, malaria o parasitosis como toxoplasmosis, cisticercosis y en general otros microorganismos infecciosos, cuya epidemiología puede ser más compleja e intrincada de lo que se conoce y cuyo conocimiento será de gran importancia para la adopción de eficaces medidas de intervención, control y vigilancia epidemiológica.

Agradecimientos

Los resultados presentados en este artículo hacen parte de proyectos financiados con el apoyo de COLCIENCIAS, el TDR/OMS, la ECLAT y el Programa Nacional de la Prevención de la Transmisión de la Enfermedad de Chagas y la Cardiopatía Infantil.

Bibliografía

- Aguiar, R.S., Chiari, E., Pena, S.D.J. and Macedo, A.M. (2000). Studies of intravectorial behavior of single and mixed *Trypanosoma cruzi* strains in triatomine vectors through DNA microsatellites. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 95(Supl.1): 344-345.
- Beltrán, M., Duque, S., Guhl, F., Herrera, C.P., López, M.C., Moreno, A.L., Nicholls, S. y Santacruz M.M. (2001). Manual de procedimientos para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Quebecor Impreandes 98 pp.
- Builes, J.J., Mejía, E., Moreno, J. and Jaramillo N. (1998). Characterization of colombian sylvatic *Trypanosoma cruzi* based on RAPD and dimorphism of both rRNA and mini-exon gene sequences. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 93 (Suppl.1): 102.
- Castañeda, N., Silva, J.C., Jaramillo, J.C., Carranza, J.C., Sánchez, J.L., Guhl, F. y Vallejo G.A. (1997). Diferencias moleculares entre cepas de *Trypanosoma rangeli* aisladas en ciclos domésticos y silvestres en el departamento del Tolima. XXXII Congreso Nacional de Ciencias Biológicas. Pamplona, Octubre 15,16,17 Y 18 de 1997. Resúmenes. p. 44.
- D'Alessandro, A. (1976). Biology of *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli* Tejera, 1920. In: Biology of Kinetoplastida. VI. Academic Press, W. H. R Lumsden and D:A: Evans edits. London, New York and San Francisco. pp. 327-493.
- D'Alessandro-Bacigalupo, A. and Gore-Saravia, N. (1992). *Trypanosoma rangeli*. In: Parasitic Protozoa. V. II. Academic Press. pp. 1-54.
- D'Alessandro-Bacigalupo, A. and Gore-Saravia, N. (1999). *Trypanosoma rangeli*. In: Protozoal Diseases. Gilles Herbert M. (edit.). Oxford University Press. pp. 398-412.
- Devia, F. (1999). Caracterización bioquímica de cepas de *Trypanosoma cruzi* del departamento de Santander y otros departamentos. Tesis M.Sc. Departamento de Ciencias biológicas. Facultad de Ciencias. Universidad de los Andes. Santafé de Bogotá. 90 pp.
- Gualtero, D., Carranza, J. C., Sánchez, J. L., Silva, J. C., Castañeda, N., Jaramillo, J. C., Guhl, F. y Vallejo, G. A. (1998). Divergencia genética entre poblaciones domésticas y silvestres de *Trypanosoma rangeli* en Colombia, confirmada mediante amplificación aleatoria de DNA (RAPDs). XXXIII Congreso Nacional de la Asociación Colombiana de ciencias Biológicas. Ibagué, octubre 14-17. Resúmenes. p. 57
- Guhl, F. and Marinkelle, C.J. , (1982), Antibodies against *Trypanosoma cruzi* in mice infected with *T. rangeli*. Ann. Trop. Med. Parasitol. 76(3): 361.
- Guhl, F. and Vallejo, G.A. 1999. Interruption of chagas Disease Transmission in the Andean Countries: Colombia. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 94(Suppl. 1): 413-415.
- Macedo, A.M., Vallejo, G.A., Chiari, E. and Pena, S.D.J. (1993). DNA fingerprinting reveals relationships between strains of *Trypanosoma rangeli* and *Trypanosoma cruzi*. In: Pena S D J, Chakraborty R, Epplen J T, Jeffreys A J, eds. DNA Fingerprinting: State of the Science. Basel/Switzerland, Birkhauser Verlag. pp 321-329.
- Marinkelle, C.J. (1966). Observations on human, monkey and bat trypanosomas and their vectors in Colombia. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. , 60: 109-116.
- Miles, M.A. Souza, A. Povoá, M. Shaw, J.J. Lainson, R. And Toye, P.J. (1978). Isozymic heterogeneity of *Trypanosoma cruzi* in the first autochthonous patients with Chagas disease in Amazonian Brazil. Nature. 272: 819-821.
- Miles, M., Lanham, S., De Sousa, A. and Povoá, M. (1980). Further enzymic characters of *Trypanosoma cruzi* and their evaluation for strain identification. Trans. R. Trop. Med. Hyg. 74: 221-237.
- Pinto Dias, J.C. (2000). Epidemiologia. En: *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. Brener, Z., Andrade Z.A., Barranl-Netto M. (Edts.). Editora Guanabara Koogan S.A. 2ª. Edição. Rio de Janeiro. pp 48-74.
- Sánchez, J., Carranza, J., Gualtero, D., Jaramillo, J.C., Guhl, F., Marinkelle, C.J. y Vallejo, G. (1998). Aplicación de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para el diagnóstico y la 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 Médica Colombiana. 23(4): 241.
- Souto, R. and Zingales, B. (1993). Sensitive detection and classification of *Trypanosoma cruzi* by amplification of a ribosomal RNA sequence. Mol. Biochem. Parasitol. 62: 45-52.
- Souto, R.P., Fernandes, O., Macedo, A.M., Bernabé, Ch., Tibayrenc, S., Breniere, F., Campbell, D.A. and Zingales, B. (1996). Two independent nuclear markers define two phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi* and may suggest genetic transfer between them. Mol Biochem Parasitol. 83: 141-152.
- Steindel, M., Dias-Neto, E., Carvalho-Pinto, C.J., Grisard, E., Menezes, C., Murta, S.M.F., Simpson, A.J.G. and Romanha, A.J. (1994). Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) and Isoenzyme Analysis of *Trypanosoma rangeli* Strains. J. Euk. Microbiol. 41: 261-267.

Triana, O., Jaramillo, N. and Moreno, J. (1999). Genetic variability of Colombian populations of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*. Biol. Res. 32: 1-10.

Vallejo, G.A., Macedo, A.M., Chiari, E. and Pena, S.D.J. (1994). Kinetoplast DNA from *Trypanosoma rangeli* contains two distinct classes of minicircle with different size and molecular organization. Mol. Bioch. Parasitol. 67: 245-253.

Vallejo, G.A., Carranza, J.C., Sánchez, J.L., Jaramillo, J.C. y Guhl, F. (1997a). Amplificación de PCR multiplex de kADN para la detección de *Trypanosoma cruzi* y *T. rangeli* en vectores y hospederos vertebrados. XIII Congreso latinoamericano de Parasitología. Instituto Pedro Kourí, La Habana-Cuba. Resúmenes. p. 88.

Vallejo, G.A., Silva, J.C., Castañeda, N., Jaramillo, J.C., Carranza, J.C., Sánchez, J.L. y Guhl, F. (1997b). Two major sub-populations of *Trypanosoma rangeli* in Colombia defined by sub-specific DNA probes. Mem Inst Oswaldo Cruz. 92 (Suppl. 1): 192.

Vallejo, G.A., Carranza, J.C., Lozano, L.E., Sánchez, J.L., Jaramillo, J.C., Gualtero, D. and Guhl F. (2000). Characterization of two distinct strain-groups of *Trypanosoma rangeli* circulating in domestic and sylvatic cycles in Colombia. Mem. do Inst. Oswaldo Cruz. 95: 42-44.

Vallejo, G.A., Guhl, F., Carranza, J.C., Lozano, L.E., Sánchez, J.L., Jaramillo, J.C., Gualtero, D., Castañeda, N., Silva, J.C. and Steindel, M. (2001). KDNA markers define two major *Trypanosoma rangeli* lineages in Latin-America. Submitted for publication in ACTA TROPICA.