

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS VETERINARIAS



EVIDENCIA DE INFECCIÓN POR *Trypanosoma cruzi* EN PERROS (*Canis lupus familiaris*) EN UN CENTRO DE CONTROL ANIMAL DE BAJA CALIFORNIA, MÉXICO.

TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE: MAESTRO EN
CIENCIAS VETERINARIAS.

PRESENTA

MARTHA JAZMIN CAMACHO OSUNA

DIRECTORA DE TESIS

DRA. ANA PAULINA HARO ÁLVAREZ

Co-Director

DR. GILBERTO LÓPEZ VALENCIA

MEXICALI BAJA CALIFORNIA MÉXICO

DICIEMBRE 2024

EVIDENCIA DE INFECCIÓN POR *Trypanosoma cruzi* EN PERROS (*Canis lupus familiaris*) EN UN CENTRO DE CONTROL ANIMAL DE BAJA CALIFORNIA, MÉXICO. Tesis presentada por Martha Jazmin Camacho Osuna como requisito parcial para obtener el grado de: Maestra en Ciencias Veterinarias, que ha sido aprobado por el comité particular indicado:

Dra. Ana Paulina Haro Álvarez

Director de Tesis

Dr. Gilberto López Valencia

Co-director

Dr. Gerardo Enrique Medina Basulto

Sinodal

Dr. Enrique Trasviña Muñoz

Sinodal

Dr. José Carlomán Herrera Ramírez

Sinodal

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco a mi esposo, por su apoyo incondicional a lo largo de este proceso, su paciencia, comprensión y aliento fueron fundamentales para superar los desafíos y alcanzar esta meta.

Agradezco profundamente a mis padres por su amor incondicional, apoyo y confianza a lo largo de toda mi vida. Su ejemplo y motivación han sido fundamentales para alcanzar este logro. Asimismo, quiero expresar mi gratitud a mi suegra, por su cariño y apoyo constante.

Agradezco a mi Directora de tesis la Dra. Paulina Haro por compartir sus conocimientos, su confianza en mis capacidades fueron un motor constante a lo largo de este proceso. Su exigencia y rigor académico fueron fundamentales para moldear mi pensamiento crítico y desarrollar una disciplina de trabajo que me acompañará siempre.

Agradezco también a mi codirector de tesis, el Dr. Gilberto López Valencia, por su invaluable guía y conocimientos a lo largo de mi formación académica. Asimismo, expreso mi gratitud a los doctores Gerardo Enrique Medina Basulto, José Carlomán Herrera Ramírez, Alfonso de la Mora Valle, Oshima Sawako, Cristina Pérez Linares y Alberto Barreras Serrano, quienes, con sus enseñanzas y consejos, enriquecieron significativamente mi trayectoria académica.

Agradezco a los alumnos del instituto en ciencias veterinarias que colaboraron en todos los aspectos del trabajo de campo, al personal del Centro de control Animal de Mexicali por la disposición y apoyo para realizar este proyecto

y a todos los integrantes del Laboratorio de Biología Molecular del Intituto de Ciencias veterinarias.

Un especial agradecimiento a mi amigo y compañero Juan José Ríos, cuyos conocimientos y apoyo fueron fundamentales para la culminación de este proyecto. Asimismo, agradezco a mi amiga Rocío por su escucha y ánimo constantes y a mis compañeros Paola, Keydi y Carlos Iván por su invaluable colaboración y apoyo en cada etapa de este proceso.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mi esposo, Edgar, por su amor incondicional y apoyo constante durante todo este proceso. A mis padres, Javier y Martha, por inculcarme el valor del estudio y por siempre creer en mí.

RESUMEN

Evidencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en perros (*canis lupus familiaris*) en un centro de control animal de Baja California, México.

La enfermedad de Chagas (EC) es una enfermedad potencialmente mortal causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi* (*T.cruzi*). El perro es considerado como uno de los más importantes hospederos de *T. cruzi* en regiones endémicas y su vigilancia aporta conocimientos sobre el perfil epidemiológico de la EC en la población. El objetivo del presente trabajo es determinar si existe evidencia de infección por *T. cruzi* en perros (*Canis lupus familiaris*) del centro de Control Animal de la ciudad de Mexicali. Se analizaron un total de 86 muestras de sangre de perros. Para determinar la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* se realizaron dos pruebas serológicas, hemaglutinación indirecta y ELISA. Para determinar la presencia de ADN de *T. cruzi* en perros, se realizó PCR punto final utilizando los primers TCZ 1 y TCZ 2. Por último, para determinar la presencia de tripanosomas circulando en sangre periférica, se llevó a cabo la técnica de microconcentración. Este es el primer estudio sobre de la infección por *T. cruzi* en perros en el estado de Baja California. La prevalencia observada fue de 2.3% y los casos identificados se encontraban en la etapa crónica de la enfermedad.

Palabras clave: Tripanosomiasis americana, perros, parásitos sanguíneos, zoonosis

ABSTRACT

Evidence of *Trypanosoma cruzi* infection in dogs (*canis lupus familiaris*) in an animal control centre in Baja California, Mexico.

Chagas disease (CD) is a life-threatening disease caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi* (*T.cruzi*). The dog is considered one of the most important hosts of *T. cruzi* in endemic regions, its surveillance provides knowledge about the epidemiological profile of EC in the population. The objective of this work is to determine if there is evidence of *Trypanosoma cruzi* infection in dogs (*Canis lupus familiaris*) from Mexicali. A total of 100 blood samples from dogs were analyzed. To determine the presence of antibodies against *T. cruzi*, two serological tests were performed, indirect hemagglutination and ELISA. To determine the presence of *T. cruzi* DNA in dogs, PCR was performed using the primers TCZ 1 and TCZ 2. Finally, to determine the presence of trypanosomes circulating in peripheral blood, the microconcentration test was performed. The present study represents a first approach to the study of *T. cruzi* infection in dogs in the state of Baja California. The observed prevalence was 2.3% and the identified cases were found in the chronic stage of the disease.

Keywords: American trypanosomiasis, dogs, blood parasites, zoonoses

CONTENIDO

	Pág.
AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIA	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
CONTENIDO	viii
LISTA DE CUADROS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE ANEXOS	xiii
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Epidemiología.....	4
Etiología	7
<i>Unidades de tipificación discretas</i>	9
Ciclo Biológico	10
Diversidad según ciclos de transmisión.....	13
Mecanismos de transmisión	14
<i>Transmisión vectorial</i>	14
<i>Transmisión oral</i>	16

<i>Transmisión relacionada con transfusiones sanguíneas y sus derivados.....</i>	17
Transmisión por trasplante de órganos.....	18
Transmisión congénita.....	18
Otros mecanismos de transmisión.....	19
Ciclos de transmisión.....	19
Reservorios silvestres.....	20
<i>Carnivora.....</i>	22
<i>Didelphimorphia.....</i>	23
Hospederos.....	25
<i>Perros.....</i>	26
Presentación clínica.....	29
Métodos diagnósticos.....	33
<i>Métodos de diagnóstico en la fase aguda.....</i>	33
<i>Métodos de diagnóstico en la fase crónica.....</i>	38
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	46
JUSTIFICACIÓN.....	48
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	49
OBJETIVO GENERAL.....	50
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	50
MATERIAL Y MÉTODOS.....	51

Tipo de estudio	51
Lugar de estudio	51
Duración del estudio	52
Origen de la información	52
Criterios de inclusión y exclusión	52
Cuestionario epidemiológico.....	52
Análisis estadístico.....	52
Metodología	53
Tamaño de muestra.....	53
Obtención de la muestra.....	53
Pruebas diagnósticas	53
<i>Técnica de microconcentración</i>	53
<i>Reacción en cadena de polimerasa</i>	54
<i>Ensayo inmunoenzimático</i>	54
<i>Reacción de hemoaglutinación indirecta</i>	55
Criterios de diagnóstico de infección por <i>T. cruzi</i>	55
RESULTADOS.....	57
DISCUSIÓN.....	59
CONCLUSIÓN.....	63
LITERATURA CITADA.....	64
ANEXOS.....	93

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Pág.
1. Asociación entre la presentación clínica, los reservorios silvestres y la distribución geográfica que presentan las diferentes DTU de <i>T. cruzi</i>	11
2. Prevalencia de <i>T. cruzi</i> en perros de diferentes estados de la república mexicana.....	30
3. Pruebas serológicas rápidas utilizadas en animales para la detección de <i>T. cruzi</i>	43
4. Criterios de positividad de la muestra.....	56
5. Cuadro de Características de Perros Positivos a <i>T. cruzi</i> ...	58

LISTA DE FIGURAS

Figura	Pág.
1. Prevalencia de infección por <i>T. cruzi</i> en la frontera de México- EE. UU.	8
2. Diferentes formas evolutivas de <i>T. cruzi</i> : (a) amastigote, (b) epimastigote, (c) tripomastigote metacíclico, (d) tripomastigote sanguíneo. (Barra de escala: 5 m m).....	12
3. Ciclo vital de triatomíneos (<i>Rhodnius prolixus</i>). H. Huevos; estadios ninfales I, II, III, IV, V; ♀, ♂ adultos: hembra y macho.....	15

LISTA DE ANEXOS

Anexo		Pág.
1	Formato de toma de muestras de sangre de perros capturados del Centro Municipal de Control Animal de Mexicali	96
2	Formato de examen físico de perros capturados del Centro Municipal de Control Animal de Mexicali	97

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas (EC) o tripanosomiasis americana es una zoonosis que se transmite principalmente vía vectorial, cuyo agente etiológico es el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). La enfermedad fue descubierta en Brasil por el Dr. Carlos Chagas en 1908. *T. cruzi* afecta a más de 180 especies de mamíferos dentro de ellos los humanos. Se transmite por insectos hematófagos (triatominos) conocidos como chinches. Actualmente, se notifican 31 especies de estos insectos vectores en México (Noireau et al., 2009; Ramsey et al., 2015).

Se estima que entre 6 y 7 millones de personas se encuentran infectadas por *T. cruzi* en todo el mundo, y la gran mayoría reside en Latinoamérica. La EC causa 12,000 muertes y 30,000 nuevos casos cada año en todo el mundo (OMS, 2024). En el hemisferio occidental es una de las principales causas de cardiopatía en personas en situación de pobreza extrema, principalmente en América Latina, donde es una de las principales causas de muerte parasitaria (Bern et al., 2011). En México, se estima una seroprevalencia que oscila entre 1.0% y 5.9% es decir, entre uno y seis millones de casos en todo el país (Cruz-Reyes y Pickering-Lopez, 2006; Bern et al., 2011).

Se han identificado distintos hospederos domésticos que forman parte de la fuente de alimento de los triatominos y por lo cual se encuentran expuestos a ser infectados con *T. cruzi*; como es en el caso de los perros y del ganado vacuno,

porcino, caprino y ovino (Velazquez-Ramírez et al., 2022).

En un estudio realizado en el estado de Yucatán, México encontraron como principales fuentes de alimentación del vector a humanos, perros y vacas. Dentro de los hallazgos se identificó que más del 75% de los insectos vectores capturados se habían alimentado de al menos de uno de estos mamíferos (Moo-Millan et al., 2019).

Deane en 1994, mencionó por primera vez la importancia de los perros como hospederos domésticos de *T. cruzi*, en un estudio realizado en Brasil. Actualmente, se reconoce su importancia en todo el continente Americano. Esto debido a que desempeñan un papel clave como hospederos amplificadores de la infección por *T. cruzi*, tanto en ciclos de transmisión domésticos como peridomésticos en diversas ecorregiones y con distintas especies de triatominos involucradas (Gürtler y Cardinal, 2015).

En el período del 2013 al 2023 el SINAVE notificó un total de 19 casos de la enfermedad de Chagas en humanos en el estado de Baja California, de los cuales 9 fueron notificados en 2023. En Ensenada B. C. se notificó una prevalencia estimada del 1.7% de enfermedad de Chagas en humanos (Pallarés et al., 2014). Los estados colindantes a Baja California han registrado un aumento en los casos notificados de enfermedad de Chagas en los últimos años. Acorde al Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE), Sonora, estado vecino al norte de Baja California, reportó un total de 27 casos nuevos entre 2014

y 2022. En la frontera sur de Estados Unidos, trabajos de investigación recientes más recientes indican una prevalencia estimada de 7.4% en California (Hernández et al., 2019) y 0.48% en Arizona (Irish et al., 2022), lo que subraya la importancia de fortalecer la vigilancia epidemiológica en la región.

Respecto a la prevalencia de *T. cruzi* en perros se han realizado diversos estudios en distintos estados de la república mexicana, siendo la más alta notificada del 50%; en 2022 por Benítez-Villa y colaboradores en una zona rural del estado de Veracruz, y la más baja 4.44% en el estado de Sonora, México, donde analizaron 180 muestras de perros de propietarios que practicaban la tenencia responsable, en una zona urbana (Arce-Fonseca et al., 2017). Sin embargo, en el estado de Baja California, aún no existen estudios sobre la infección por *T. cruzi* en perros, a pesar de la relevancia de este hospedador en el ciclo de transmisión peridoméstica y de la evidencia de la presencia de la enfermedad en humanos en el estado y en perros en los estados vecinos.

Por lo anterior, el objetivo del presente estudio es determinar si existe evidencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en perros (*Canis lupus familiaris*) del centro de Control Animal de Mexicali Baja California, México.

REVISIÓN DE LITERATURA

Epidemiología

En el mundo, se estima existen aproximadamente de 6 a 7 millones de personas infectadas con *T. cruzi*. La mayoría de las personas infectadas se localizan en territorios endémicos de 21 países continentales de América Latina. En las últimas décadas, el patrón epidemiológico de la enfermedad cambió de una enfermedad rural a ser principalmente urbana, esto es debido principalmente a la movilización de la población, urbanización y emigración. Consecuente a esto, se ha detectado un aumento de casos en Canadá, EE. UU. y en muchos países europeos, algunos de África, el Mediterráneo oriental y el Pacífico occidental. Como resultado, la EC se considera una enfermedad emergente en países no endémicos de otros continentes (Salazar-Schettino et al., 2016a).

El mantenimiento de la biodiversidad en un ecosistema es una forma de moderar la dispersión de parásitos; a esto se le conoce como “Efecto de dilución” (Xavier et al., 2012). La disrupción de este equilibrio debido a la pérdida de vida silvestre por la destrucción del medio ambiente dará lugar a la escasez de fuentes de alimento para vectores como los triatomíneos y debido a esto existe una mayor probabilidad de contacto con los humanos. Las principales causas de los brotes de la enfermedad de Chagas en los últimos años son: la fragmentación de bosques, limitando las zonas para mamíferos y vectores; la migración de hospederos y vectores a nuevas zonas; cercanía a viviendas humanas y sus

anexos; y el contacto entre vectores infectados y humanos (comida o bebida preparada por humanos) (Roque et al., 2008; Xavier et al., 2012).

En 2015 se estimó que más del 80% de los individuos infectados con *T. cruzi* en el mundo carecen de un diagnóstico o tratamiento, lo cual tiene repercusión de la morbilidad, mortalidad y el costo social de la afección (Pinto et al., 2016). En un estudio realizado por Lee y colaboradores en 2013, estimaron que una persona infectada por *T. cruzi* a lo largo de su vida genera un costo aproximado de US \$3456 y 3.57 años de vida ajustados por discapacidad (AVAD). Los AVAD son una medida utilizada en la salud pública y la epidemiología para evaluar la carga de enfermedad y calidad de vida. Por lo tanto, la carga a nivel mundial es de \$627.46 millones de dólares en los costos de atención de salud y 806,170 en AVAD. Esto principalmente en consecuencia de la pérdida de productividad por mortalidad precoz inducida por enfermedades cardiovasculares.

En México, la EC se considera endémica en 18 estados del país, donde; Jalisco, Oaxaca, Chiapas y Veracruz son los estados con mayor número de incidencias (Cruz-Reyes y Pickering-López, 2006). En gran parte del territorio mexicano se notifica la transmisión activa y proyecciones más actuales indican una seroprevalencia nacional estimada de 3.38%, lo que implica que aproximadamente cuatro millones de individuos están infectados por *T. cruzi* en el país. (Arnal et al., 2019).

En el país, la transmisión por transfusión de sangre o sus derivados infectados por *T. cruzi*, es una de las principales causas de la EC especialmente en zonas no endémicas. Anteriormente, en México la Norma oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993, para la disposición de sangre y sus componentes con fines terapéuticos, consideraba como obligatorio que se realizará la prueba diagnóstica de *T. cruzi* solo a los donantes “con antecedentes de residir en zonas endémicas de tripanosomiasis americana” (Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993). No fue hasta 2016 que se estableció el tamizaje obligatorio en todos los bancos de sangre de México (Secretaría de Salud, 2019). En un estudio realizado a donadores de bancos de sangre del Instituto Mexicano de Seguridad Social (IMSS) entre 2008 y 2009; se notificó una prevalencia del 0.406 % y del 0.21% en Mexicali, B. C. (Novelo-Garza, et al., 2010). Por otra parte, el Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea (CNTS) en 2017 notificó una seroprevalencia media nacional del 0.37% y del 0.20% en Baja California (Secretaria de salud, 2019). Se estima que cada año alrededor de 2,000 habitantes pueden estar expuestos a contraer la EC debido a transfusiones sanguíneas (Novelo-Garza et al., 2010).

El estado de Baja California no es considerado una zona endémica de la EC, sin embargo, existen datos migratorios de zonas endémicas de la EC hacia el estado, que pueden considerarse como un factor de riesgo importante. De acuerdo al boletín anual (2023) de la Organización Internacional para las Migraciones (OIM), en el año 2023 se registraron 33,939 eventos de personas en situación migratoria, correspondiendo principalmente a personas originarias de

Venezuela, Honduras y Guatemala. Además, en 2020 Baja California presentaba la mayor población de personas migrantes internacionales de toda la entidad federativa.

En el período del 2013 al 2023 el SINAVE notificó un total de 19 casos de la enfermedad de Chagas en humanos en el estado de Baja California, de los cuales 9 fueron notificados en 2023. En Ensenada B. C. Se notificó una prevalencia estimada del 1.7% de enfermedad de Chagas en humanos (Pallarés et al., 2014). En la figura 1 se muestran las distintas prevalencias notificadas tanto en humanos como en perros en la frontera de México- EE. UU.

Etiología

El agente etiológico de la EC, *T. cruzi* es un parásito flagelado perteneciente a la familia de los tripanosomátidos, incluida en el orden de los cinetoplástidos de la clase Zoomastigina (Murillo-Godínez 2018). Es considerado principalmente un parásito enzoótico que presenta una gran variabilidad genética, atribuida principalmente a un largo proceso de evolución clonal en sus casi 100 especies de mamíferos silvestres hospederos. En Sudamérica, *T. cruzi* ha circulado en la fauna de mamíferos autóctonos desde su especiación (Roque et al., 2008).

T. cruzi posee una estructura heterogénea y se compone de diferentes linajes, que circulan en ciclos domésticos y silvestres, involucrando al hombre, reservorios mamíferos y vectores (Santos-Mallet Jr. et al., 2008). Se han

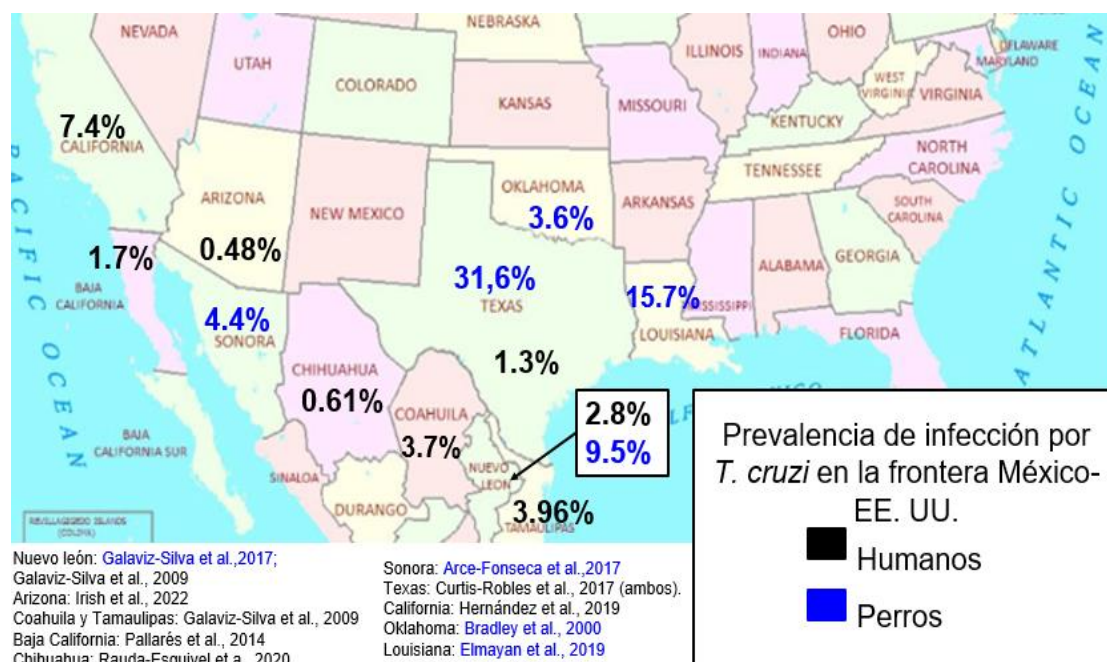


Figura 1. Prevalencia de infección por *T. cruzi* en la frontera de México- EE. UU

Elaboración propia.

detectado diferentes variantes genéticas en varios hospedadores y regiones geográficas (Sánchez-Guillen et al., 2006).

Unidades de tipificación discretas: *T. cruzi* es un microorganismo patógeno que se caracteriza por presentar una alta diversidad genética y fenotípica. Es necesaria la comprensión de sus distintas características debido a la relación que existe entre los ciclos de transmisión y la presentación clínica de las distintas cepas de *T. cruzi*. El 23 de agosto de 2009 se celebró en Buzios, Brasil, una segunda reunión satélite, por consenso, el comité de expertos reconoció que la nomenclatura de las cepas de *T. cruzi* debería clasificarse en seis unidades de tipificación discretas (DTU), denominadas TcI-TcVI (Zingales et al., 2009; Zingales et al., 2012). Una presunta séptima DTU, Tcbat, se definió como una DTU relacionada con murciélagos, aunque ya se notificaron infecciones humanas por esta DTU (Marcili et al., 2009; Guhl et al., 2014; Ramírez et al., 2014).

Hasta la fecha, no ha sido posible asociar inequívocamente los genotipos de *T. cruzi* con ninguna variable de respuesta biológica, incluidos el bioma y el medio ambiente o las especies hospedadoras (Jansen et al., 2020). El DTU TcI se relaciona a cardiopatías en todo el continente americano, siendo su principal reservorio los didélfidos. TcII se relaciona a cuadros cardíacos y gastrointestinales en el cono sur y sus principales reservorios son los primates y didélfidos. TcIII aún no ha sido identificada causando infecciones humanas sus principales reservorios son los armadillos y se ha identificado en Sudamérica. TcIV, poco se conoce acerca de esta DTU, se ha identificado en América del norte y del sur en primates y coatíes. TcV y TcVI causan cuadros cardíacos y

gastroentéricos, sus reservorios no han sido muy estudiados y ambas se han identificado en el Cono sur y el gran Chaco. TcBat se relaciona con cuadros clínicos cardíacos y gastrointestinales, y los mamíferos del orden *Chiroptera* son su reservorio (Cuadro 1) (Zingales et al., 2012; Ramírez et al., 2014).

TcI es la DTU más prevalente en el continente americano en términos de distribución geográfica, TcII se asocia clásicamente con casos en humanos en el ciclo doméstico (Zingales et al., 2012), pero cada vez se ha observado más frecuentemente infectando a mamíferos silvestres en diferentes biomas de América del Sur (Rozas et al., 2007; Araujo et al., 2011).

Ciclo biológico

Se presentan 4 formas evolutivas distintas, durante el ciclo de vida de *T. cruzi*; amastigote, epimastigote, tripomastigote metacíclico y tripomastigote sanguíneo. (Figura 2). Este incluye hospederos y reservorios vertebrados (mamíferos y humanos) e invertebrados (triatominos). Los vectores que transmiten este parásito son insectos hematófagos del orden Hemiptera, familia Reduviidae, subfamilia Triatominae (Galvão, 2014). Los triatominos se infectan al succionar sangre de mamíferos infectados en los cuales circula por el torrente sanguíneo la forma parasitaria conocida como tripomastigote sanguíneo. En el tracto digestivo craneal de los triatominos, los tripomastigotes sanguíneos se transforman en epimastigotes (estadio multiplicativo) y pasan a ser tripomastigotes metacíclicos en la última porción del intestino del vector. La infección a los mamíferos sucede en el momento en que entra en contacto con

Cuadro 1 Asociación entre la presentación clínica, los reservorios silvestres y la distribución geográfica que presentan las diferentes DTU de *T. cruzi*

Genotipo	Presentación clínica	Reservorios	Distribución
TcI	Cardíaca	<i>Didelphis</i> , roedores, primates, <i>Tamandúa</i> .	América del Sur, Central y del Norte
TcII	Cardíaca y gastrointestinal	Primates, <i>didephids</i> y <i>Euphractus</i> .	Cono Sur, esporádico más al Norte
TcIII	No ha sido detectada	Armadillos, <i>Didephids</i> y <i>Monodelphis</i>	Sudamérica
TcIV	Poco conocida	Primates, <i>Nasua nasua</i>	América del Norte y del Sur
TcV	Cardíaca y gastrointestinal	<i>Dasypus</i> , <i>Euphractus</i> y <i>Octodon</i>	Cono Sur, Gran Chaco, extremo Sur de Brasil
TcVI	Cardíaca y gastrointestinal	Incompletamente conocido	Cono Sur, Gran Chaco
Tcbat	Cardíaca y gastrointestinal	<i>Chiroptera</i>	

Adaptado de Zingales et al. (2012); Ramírez et al. (2014)

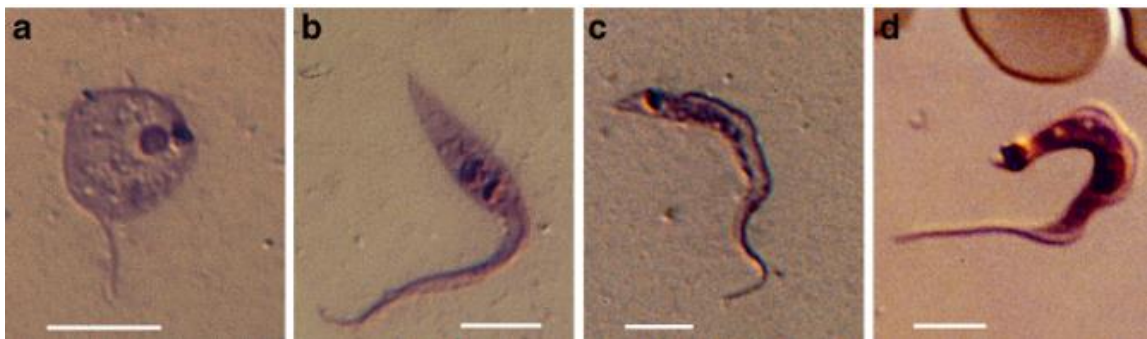


Figura 2. Diferentes formas evolutivas de *T. cruzi*: (a) amastigote, (b) epimastigote, (c) tripomastigote metacíclico, (d) tripomastigote sanguíneo. (Barra de escala: 5 m m).

Schaub et al. 2011

transforman en amastigotes, los cuales se replican por fisión binaria. Cuando la célula se llena de amastigotes, estos se diferencian nuevamente a tripomastigotes mediante el crecimiento de flagelos. Los tripomastigotes destruyen las células y colonizan los tejidos cercanos y se diseminan por medio de los vasos linfáticos y el torrente sanguíneo a sitios distantes, con tropismo a células musculares (cardíacas, lisas y esqueléticas) y células ganglionares, en las cuales adicionales de multiplicación intracelular. El ciclo de transmisión se completa cuando los tripomastigotes circulantes son succionados por los vectores a la hora de alimentarse de sangre (Rassi Jr. et al., 2010).

Diversidad según ciclos de transmisión

Un ejemplo de la diversidad con relación a los ciclos de transmisión que ocurren de manera independiente en el mismo fragmento de bosque se observó en un estudio realizado en el bosque tropical en el bioma del bosque atlántico donde se lleva a cabo un programa de conservación de la especie de tamarino león dorado el cual se encuentra en peligro de extinción (*Leontopithecus rosalia*). El estudio de la infección por *T. cruzi* de tamarinos león dorado y mamíferos sinantrópicos en el área reveló que los tamarinos únicamente se encontraban infectados por *T. cruzi* DTU TcII y todas las demás especies de mamíferos locales mostraron infecciones con TcI, esto posiblemente debido a que las diferentes DTU de *T. cruzi* presentan distintos mecanismos de mantenimiento y dispersión en la naturaleza (Lisboa et al., 2015).

Mecanismos de transmisión

La enfermedad de Chagas presenta diversos mecanismos de infección que subrayan su complejidad. Este parásito, transmitido principalmente por triatomíneos, emplea estrategias variadas para infiltrarse en el organismo. Entre los principales mecanismos se incluyen la infección a través de las heces de los triatomíneos durante su picadura, la transmisión vertical de madre a hijo, la ingestión de alimentos contaminados y la posibilidad de adquirir la infección mediante transfusiones sanguíneas o trasplantes de órganos. A continuación, se describen a detalle las distintas vías de transmisión de *T. cruzi*.

Transmisión vectorial: Este mecanismo es responsable de aproximadamente el 90% de la transmisión del parásito a la población humana en áreas endémicas (Secretaría de Salud, 2019). En México, la transmisión vectorial ocurre en dos tercios partes del territorio, (Salazar-Schettino et al., 2016b). Después de la contaminación por un insecto triatómino, uno de cada diez individuos infectados desarrolla la etapa aguda de la enfermedad de Chagas (Pinto et al., 2016). Los triatomíneos presentan cinco etapas de estadio ninfal antes de ser adultos (Figura 3), durante cada etapa de la vida, los triatomíneos deben consumir al menos una comida de sangre (Martínez-Ibarra et al., 2013).

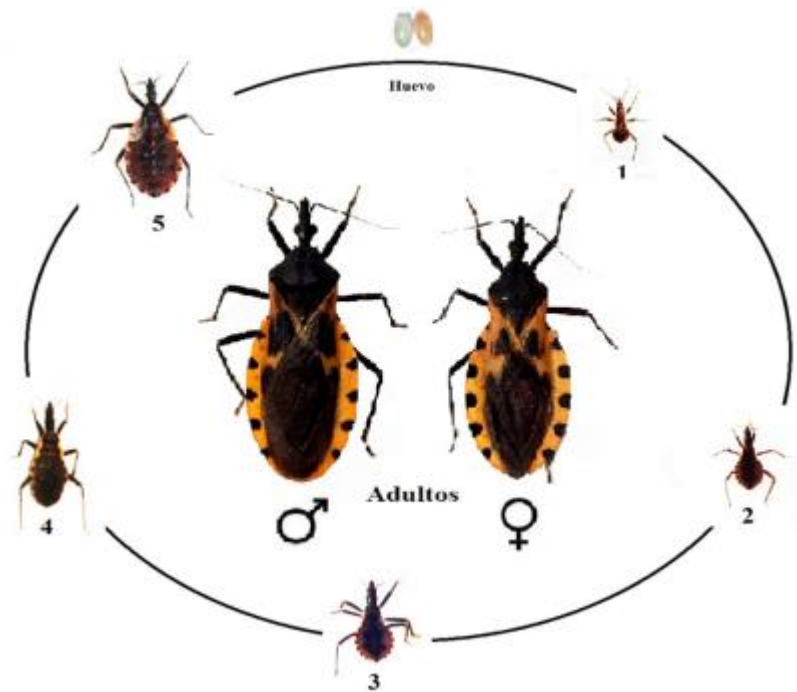


Figura 3. Ciclo vital de triatominos (*Rhodnius prolixus*). H. Huevos; estadios ninfales I, II, III, IV, V; ♀, ♂ adultos: hembra y macho.

(Cazarola-Perfetti, 2016).

Transmisión oral: En la actualidad gran parte de los casos de la EC son provocados por el consumo de alimentos contaminados por formas metacíclicas de *T. cruzi*. Estos casos suceden en diversos entornos regionales, principalmente en el bioma amazónico y están asociados con la forma de interacción local de los con su entorno, así como con las características ecológicas locales en general (Jansen et al., 2018). Después de un período de latencia de 3-22 días, a partir de la ingestión, la infección oral se caracteriza por manifestaciones más graves que la vectorial: fiebre prolongada, miocarditis aguda con insuficiencia cardíaca y en algunos casos meningoencefalitis. La mortalidad puede llegar hasta un 33% de los infectados (Filigheddu et al., 2017).

La transmisión oral se ha considerado como el principal mecanismo de transmisión entre los reservorios silvestres, principalmente mamíferos carnívoros y recientemente también como una de las principales vías de transmisión en humanos (Shikanai-Yasuda y Carvalho 2012; Roque et al., 2008). La ruta transmisión clásica (vectorial) también pudiera suceder en estas especies, pero no es muy efectiva debido a que la mayoría de estos mamíferos presentan comportamientos nocturnos, que es cuando normalmente ocurre la transmisión vectorial, además no usan madrigueras permanentes y las heces contaminadas expulsadas por el vector aún tendrían que pasar el pelaje generalmente denso de estos carnívoros (Rocha et al., 2013).

Rocha et al (2013) demostraron que cuanto mayor es la proporción de invertebrados en la dieta de las especies, mayor es la tasa de infección por *T. cruzi*. Curiosamente, la tasa de exposición a *T. cruzi* en las tres especies de

cánidos, que fueron estudiados; el zorro hoary, el zorro cangrejero y el lobo de crin, aumenta en la proporción de la cantidad de invertebrados en su dieta. Sus resultados sugieren que las especies de carnívoros con dieta insectívora tendrían más probabilidades de contacto con insectos triatomíneos mientras se alimentan. Para las especies de cadena superior (depredadores), la infección ocurre a través de la ingestión de presas infectadas por *T. cruzi*, también podría ser una ruta de infección importante (Thomas et al., 2007).

En áreas en las que la fauna de mamíferos presenta una baja parasitemia la transmisión de *T. cruzi* depende también de las características ecológicas de los hospedadores y vectores, por ejemplo; como ocurre en el caso de las especies de animales que anidan, como los coatíes, los zorros Hoary y los tamarinos león dorado, entre los que existe un mayor contacto entre el hospedador y el vector (Jansen et al., 2018). El consumo de sangre animal infectada o carne cruda o poco cocida también representa un riesgo de infección debido a la presencia de tripanomastigotes sanguíneos y amastigotes tisulares (Pereira et al. 2010; Rueda et al. 2014). Esta ruta de infección puede ser más común en los bosques tropicales donde los animales salvajes se consumen o se comercializan en áreas urbanas. (Aysanoa et al., 2017).

Transmisión relacionada con transfusiones sanguíneas y sus derivados: la transmisión relacionada con transfusiones sanguíneas es una de las principales vías de infección por *T. cruzi* en áreas no endémicas (Coura, 2015). La transmisión por transfusión de sangre infectada por *T. cruzi* a un paciente ocurre en el 20% de los casos, y puede llegar hasta el 50% en áreas hiperendémicas de

la enfermedad. Esto probablemente se debe a que en la fase crónica de la enfermedad la parasitemia es variable, (Rohwedder, 1969; Cerisola et al., 1972; Zuna, 1983; Atias et al., 1984).

Transmisión por trasplante de órganos: en 1981, Chocair y colaboradores informaron acerca de una nueva forma de transmisión de la EC, de donantes infectados por *T. cruzi* a receptores negativos de trasplante de riñón. En los trasplantes de órganos el riesgo de que un donante infectado por *T. cruzi* le transmita el parásito al receptor, variará según el tipo de órgano trasplantado. En cohortes de receptores renales de donantes infectados en los EE. UU. y Argentina, la transmisión ocurrió en 13% y 19%, respectivamente (Riarte et al., 1999; Huprikar et al., 2013). La tasa de transmisión entre 10 receptores de trasplante de hígado en los EE. UU. fue del 20% (Huprikar et al., 2013), y riesgo de trasplante de corazón del 75 %. El uso del corazón de un donante infectado está contraindicado (Chin-Hong et al., 2011; Huprikar et al., 2013).

Transmisión congénita: el primer caso de EC congénita fue reportado por Dao en Venezuela, en 1949. La mayoría de las mujeres en edad gestacional presentan la etapa crónica de la EC, habiendo adquirido la infección durante la infancia. Alrededor del 5% de ellas transmiten el parásito a su feto, y por lo tanto nacen cada año aproximadamente 9000 bebés infectados con *T. cruzi* en América Latina. La tasa de infección varía entre países, oscilando entre el 1,0% y el 12%. El riesgo de transmisión está relacionado con los niveles de parasitemia materna, la edad, la respuesta inmune *anti-T. cruzi* y la cepa del parásito (Torrico 2018). También, se han notificado casos de EC congénita en áreas no endémicas

(Anitori et al., 2017). Se estima que la infección congénita en países endémicos representa el 22% de los nuevos casos (Picado et al. 2018).

Otros mecanismos de transmisión: la transmisión por accidentes de laboratorio ha ocurrido por diferentes situaciones, dentro de estas situaciones se encuentran: la captura de vectores en zonas endémicas, trabajos experimentales con mamíferos y cultivos infectados, aerosoles de materiales infectados, infección quirúrgica e infección durante la recolección de muestras sanguíneas de personas con infección aguda (Pinto y Amato, 2011). La transmisión sexual, la cual ha sido notificada por medio de experimentos realizados *in vivo* con ratones; sin embargo, actualmente no hay informes disponibles en humanos (Echeverría y Morilla, 2019).

Ciclos de transmisión

T. cruzi permanece en la naturaleza a través de la interacción entre tres ciclos distintos: Ciclo silvestre, peridoméstico y doméstico. El ciclo de transmisión silvestre ha existido durante millones de años entre las distintas especies de mamíferos y triatominos silvestres. Con el comienzo de la deforestación en las Américas, hace dos o tres siglos para la expansión de agricultura y ganadería, los mamíferos silvestres, que eran la fuente de alimento para los triatominos, fueron desplazados y nuevas fuentes de alimento surgieron en los gallineros, corrales y pocilgas. Dando lugar a un nuevo ciclo de transmisión peridoméstica; en la que también se pudieran llegar a presentar casos de infección a humanos de manera accidental. Progresivamente, algunas especies de triatominos

domiciliados invaden los hogares y formaron el ciclo doméstico de la enfermedad de Chagas (Coura et al., 2013).

La supervivencia del parásito en la naturaleza parece depender de la suma de periodos de alta parasitemia del conjunto de individuos y especies animales que conforman una comunidad particular, la mayoría de las especies de mamíferos tienen altos períodos de parasitemia durante tiempos cortos, es decir, potencial infeccioso durante un tiempo limitado (Jansen, et al., 2020). Además, la competencia para infectar todas las células nucleadas de mamíferos en cualquier tejido, así como las diversas formas infecciosas, también representan un poderoso mecanismo de mantenimiento de *T. cruzi* en la naturaleza (Tomasini, 2018).

Reservorios silvestres

Ashford en 1997, definió que un reservorio o más específicamente un sistema de reservorios, como la especie o el conjunto de especies que contribuyen a la preservación de un parásito en la naturaleza de forma sostenible en una escala espacial definida. Los reservorios mamíferos silvestres identificados de *T. cruzi* comprenden especies de ocho órdenes: Artiodactyla, Carnivora, Chiroptera, Cingulata, Didelphimorphia, Pilosa, Primates y Rodentia (Noireau et al. 2009; Jansen y Roque 2010).

La comunidad científica influenciada por los estudios de Barreto en 1967 comenzó a reflexionar que la perturbación del equilibrio ecológico en el entorno salvaje podría conducir a brotes de enfermedades humanas. Los principales

puntos destacados en los últimos brotes de la enfermedad de Chagas son: la fragmentación de los bosques, limitando las zonas para mamíferos y vectores; la migración de los reservorios silvestres y vectores a nuevas zonas; cercanía a viviendas humanas y sus anexos; y el contacto entre vectores infectados y humanos (o comida o bebida preparada por humanos) (Roque et al., 2008; Xavier et al., 2012).

La identificación de reservorios silvestres es imprescindible para orientar las estrategias de intervención y para reducir la transmisión en sistemas de patógenos multi hospedadores. Si bien, es poco probable que cualquier intervención en el ciclo silvestre pueda bloquear la transmisión por completo, identificar qué especies son los reservorios más importantes que sirven para infectar a los vectores con más probabilidades de contactar a los humanos u otros hospederos de interés podría ayudar a guiar las estrategias para reducir la difusión de la enfermedad (Hodo y Hamer, 2017).

Jansen y colaboradores (2018) realizaron un estudio en el que examinaron un total de 6,587 especímenes de mamíferos silvestres de los cinco biomas de Brasil, identificaron que el 17% de los mamíferos eran seropositivos y el 8% presentaban hemocultivo positivo, lo cual señala la presencia de una parasitemia elevada lo que indica a la vez un alto potencial de infectividad. También notaron que las zarigüeyas, principalmente *Philander spp.* y *Didelphis spp.*, el coatí *Nasua nasua*, el mono capuchino *Sapajus libidinosus* y el tamarino león dorado *Leontopithecus rosalia*, fueron taxones de mamíferos que obtuvieron tasas más altas de hemocultivos positivos.

Bosseno y colaboradores (2009) mencionan que las poblaciones silvestres de triatomíneos, en el occidente de México, están altamente parasitadas por *T. cruzi* y dentro de sus principales fuentes de alimentación se encontraban; *Dasypus nomencinctus* (orden Cingulata) y *Procyon lotor* (orden Carnívora), lo que señala a estos mamíferos como reservorios clave en esta región.

Carnívora: las especies del orden de los mamíferos *Carnívora*, cumplen un rol fundamental en la regulación de los ecosistemas (Letnic et al., 2012), también desempeñan un papel importante en los sistemas de transmisión enzoóticos de diversos parásitos, como la de *T. cruzi*, ya que se alimentan de especies de distintos taxones (Rocha et al., 2013).

Procyonidae es una de las 11 familias del orden *Carnívora*. La familia consta de 14 especies existentes en seis géneros (Wozencraft, 2005) que se distribuyen geográficamente en las Américas, entre ellos se encuentran; los coatis [*Nasua spp.* y *Nasuella olivacea*]; y mapaches (*Procyon spp.*) (Nowak, 2005).

Rocha y colaboradores (2013) investigaron la infección por *T. cruzi* en carnívoros silvestres de tres sitios en Brasil por medio de pruebas parasitológicas y serológicas. Las siete especies de carnívoros examinadas (*Cerdocyon thous*, *Leopardus pardalis*, *Nasua nasua*, *Procyon cancrivorus*, *Chrysocyon brachyurus*, *Lycalopex vetulus* y *Puma concolor*) se encontraban infectadas por *T. cruzi*, pero solo dos especies de *procyonidae* presentaban altas tasas de parasitemia las cuales fueron detectadas por hemocultivo, comprobando así que estos animales cuentan con un alto potencial infeccioso para la transmisión de *T. cruzi* hacia los vectores.

Asimismo, se han señalado diferencias en el potencial de infectividad entre las especies carnívoras los *Procyonidae*, especialmente *Nasua nasua*, *Nasua narica* y *Procyon lotor*, siendo las especies carnívoras que presentan un mayor potencial infeccioso denotada por parasitemias altas y duraderas (Herrera et al., 2008; Herrera et al., 2011; Rocha et al., 2013; Mehrkens et al., 2013; Martínez-Hernández et al., 2014). Los *procyonids* son omnívoros por lo cual se alimentan tanto de insectos como de pequeños mamíferos (Bianchi et al., 2014), esta característica aumenta su potencial de infección con las diversas DTU de *T. cruzi*. (Jansen et al., 2018)

Didelphimorphia: Los didélfidos (Didelphidae) son una familia de marsupiales existentes en las Américas. Didelphidae incluye cuatro subfamilias (Glironiinae, Caluromyninae, Hyladelphinae y Didelphinae), 19 géneros y 95 especies dentro de las cuales solo cuatro no se encuentran en América del Sur (Rossi and Bianconi, 2011).

Los marsupiales son fundamentales para el mantenimiento del ciclo de vida de *T. cruzi*, ya que comparten hábitat con los triatomíneos vectores y se alimentan de estos insectos, así como de especies reservorio como pequeños roedores, que pueden ser potencialmente infectados. Asimismo, el comportamiento sinantrópico de varias especies de la familia Didelphidae (zarigüeyas) como *Didelphis marsupialis* y *Didelphis aurita* puede contribuir en la diseminación de *T. cruzi* en ambientes silvestres, domésticos y peridomésticos (Grisard et al., 2000; Roque et al., 2013).

Los estudios de infección experimental por *T. cruzi* en zarigüeyas iniciados por Maria Deane y sus coautores en 1984 propusieron a las glándulas odoríferas

como un paso en la adaptación de *T. cruzi* a este hospedero mamífero; al descubrir formas extracelulares de *T. cruzi* (epimastigote y tripomastigote) en las glándulas odoríferas de zarigüeya *Didelphis aurita*. Este hallazgo mostró que las zarigüeyas pueden actuar como reservorios y vectores de *T. cruzi*. Estas, como muchos otros mamíferos, tienen un par de glándulas anales. Estas glándulas están compuestas de una capa muscular estriada y una pequeña porción de tejido conectivo. Cuando están amenazados o estresados, estos animales expulsan el contenido de mal olor de estas glándulas como mecanismo de defensa. Dentro de las glándulas odoríferas, los flagelados se encuentran principalmente alrededor del epitelio glandular (Jansen et al., 2020).

Barros y colaboradores (2020), determinaron infección por *T. cruzi* en la sangre, secreción de glándulas odoríferas, miocardio y bazo en *philander opossum*. La parasitemia detectada en el animal examinado refuerza la importancia de este marsupial como fuente de infección de triatomíneos vectores en el medio forestal, así como en zonas domésticas y peridomésticas. Además, detectaron la aparición de infección mixta por DTU del grupo TCI y TcII/V/VI se detectó en *philander opossum* el cual fue capturado en un fragmento de bosque ubicado cerca de una comunidad rural, con reportes de casos de enfermedad de Chagas aguda humanos. Este marsupial es un importante reservorio de *T. cruzi* en algunas áreas de la región amazónica (Roque et al., 2013; Jansen et al., 2018), tiene hábitos terrestres y/o arborícolas, y se encuentra en una variedad de hábitats que incluyen áreas degradadas y preservadas (Roque et al., 2013; Ardente et al., 2016).

Parada-Lopez y colaboradores (2013) en un estudio que realizaron Yucatán, México reportaron una prevalencia de infección por *T. cruzi* del 55% (21/38) en zarigüeyas (*Didelphis virginiana*), la captura de los animales se realizó en 43 hogares en un área suburbana. Se mostró una tasa de infección mucho mayor en zarigüeyas adultas (81%). En otro estudio realizado en áreas urbanas de la ciudad de Campeche, México reportaron una prevalencia en *Didelphis virginiana* del 52% (13/25). Además, también durante el mismo estudio recolectaron 36 vectores (*Triatoma dimidiata*) y encontraron una prevalencia de infección del 41,6% (15/36) con *T. cruzi*. En cuanto a la infección por edad en zarigüeyas, los adultos tuvieron una mayor prevalencia (84,61%). Todos los aislados de *T. cruzi* fueron TcI. (Tamay-Segovia et al., 2017).

Hospederos

Un hospedero es un animal vivo, que en circunstancias naturales permite el alojamiento de un agente infeccioso, y que puede o no sufrir la acción de dicho agente (Jaramillo y Martínez, 2010). En el curso de su vida los triatominos se nutren únicamente de sangre; por esto, identificar sus suministros de sangre puede exponer fundamentales hospederos locales de *T. cruzi* así como el nivel de exposición de los triatominos con los seres humanos y animales domésticos (Kjos et al., 2013; Klotz et al., 2014; Waleckx et al., 2014).

Murillo-Solano y colaboradores (2021) en un estudio que realizaron en la Sierra Nevada de Santa Marta en Colombia, identificaron veintidós especies como fuentes de alimentación entre ellos; mamíferos, aves, reptiles y anfibios.

Sin embargo, gran parte de las fuentes de alimentación sanguínea se centraron en una diversidad más reducida de especies de vertebrados, entre ellas, especies domésticas (humanos, perros, cerdos) y silvestres (ardillas, zarigüeyas, puercoespines u osos hormigueros).

Kjos y colaboradores (2013) en un estudio que realizaron en distintos condados del centro de Texas identificaron como fuente de alimentación de cuatro especies de vectores de la enfermedad de Chagas, a cuatro de los siete grupos de animales domésticos (perros, gatos, vacas y cerdos) que se conoce que habitan los sitios donde se realizó el estudio.

Moo-Millan y colaboradores (2019) señalaron a humanos, perros y vacas como las más importantes fuentes de alimentación de los triatominos capturados en ecotopos selváticos en el estado de Yucatán, México. Se identificó sangre de al menos uno de estos mamíferos en el intestino de más del 75% de triatominos. Lo que implica que estos tres mamíferos pueden desempeñar un papel primordial en el enlace de los ciclos de transmisión silvestre y doméstico.

Perros: la forma de alimentarse de los triatominos parece oportunista y particular del lugar. En el sur de los Estados Unidos, los perros domésticos han sido relacionados habitualmente como fuente de alimentación para los triatominos (Kjos et al., 2013; Waleckx et al., 2014; Curtis-Robles et al., 2017; Meyers et al., 2017), y las invasiones de triatominos o chinches besuconas se reportan habitualmente en las perreras caninas. (Kjos et al., 2013; Meyers et al., 2017; Curtis-Robles et al., 2018).

Curtis-Robles y colaboradores (2017) al examinar el contenido intestinal de triatominos atrapados en refugios caninos, identificaron la presencia de sangre de perros en todas las muestras. En el mismo estudio, los ensayos de genotipado denotaron parentesco entre las DTU descubiertas en muestras de caninos y triatominos.

Los perros se consideran hospederos importantes en la dinámica de transmisión vectorial de infección por *T. cruzi*, así como de la transmisión dentro de las viviendas humanas (Sosa-Jurado et al., 2004). Debido a esto, la vigilancia de estos animales y personas infectados es primordial para aportar más conocimientos sobre el perfil epidemiológico del riesgo de transmisión de *T. cruzi* (Araújo-Neto et al., 2019). Además, se ha demostrado que los perros vinculan los ciclos doméstico y silvestre del parásito, por lo tanto, desempeñan un papel centinela en las áreas endémicas (Roque y Jansen, 2008; Ramírez et al., 2013; Xavier et al., 2014).

Jiménez-Coello y colaboradores (2010) realizaron un estudio en Yucatán, México, donde se recolectaron muestras de suero de 35 perros y sus dueños (n = 75) Se detectaron anticuerpos IgG específicos contra *T. cruzi* en un 34% de los perros y un 8% de los propietarios. Además, se analizaron triatominos encontrados en sus hogares, los que en su totalidad resultaron positivos para *T. cruzi*. Los ratones alimentados con estos insectos también mostraron positividad tras 45 días. Se identificó un alto riesgo de infección por la enfermedad de Chagas en perros que duermen al aire libre y en aquellos con condiciones corporales deficientes. Entre los dueños, se asociaron factores de riesgo como

el sexo y la ocupación (albañiles) con la infección y se determinó que la presencia de perros seropositivos en áreas con vectores aumenta el riesgo de contagio para los humanos.

Galaviz-Silva y colaboradores (2017), en un estudio llevado a cabo en el noreste de México (Nuevo León), la prevalencia de infección en perros varió según el entorno, siendo más alta en áreas rurales (15.5%) en comparación con las suburbanas (11.1%) y urbanas (1.9%). La metodología de diagnóstico incluyó un examen parasitológico directo y PCR, con una alta tasa de concordancia entre ambos métodos.

Zamora-Ledesma y colaboradores (2020), realizaron un estudio en Querétaro, México para analizar la seropositividad a *T. cruzi* en perros. Se recolectaron muestras de suero de 303 perros en los Centros de Control Animal de los municipios de Querétaro y El Marqués, y se utilizaron técnicas de ELISA indirecto y Western Blot para el análisis. Los resultados mostraron una seropositividad del 10.2% para *T. cruzi*.

Benítez-Villa y colaboradores (2022) En un estudio realizado en el estado de Veracruz, México recolectaron 16 muestras de sangre humana y 34 muestras de sangre canina. La presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* se determinó mediante cuatro ensayos ELISA diferentes. Además, se procesaron sueros reactivos de ELISA de humanos y perros mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) como método de confirmación. Encontraron una prevalencia de 5,1% (6/116) en humanos y de 50% (17/34) en perros con dueño. Además de identificó la

presencia de animales (perros, gallinas y animales silvestres), así como algunas características de la construcción de viviendas como factores de riesgo para infección por *T. cruzi*. En el cuadro 2 se pueden observar las distintas prevalencias de *T. cruzi* en perros, notificadas en los distintos estados de la república mexicana.

Presentación clínica

La enfermedad de Chagas se presenta en dos etapas diferentes: una fase aguda, y una crónica. La fase aguda tiene una duración aproximada de 8 semanas e inicia después de un periodo de incubación de 1 a 2 semanas (Goldsmith et al., 2012). La fase crónica sucede aproximadamente dos meses después de la infección inicial (Rassi et al., 2017).

Durante la fase aguda, los parásitos se encuentran en el torrente sanguíneo, generalmente causando signos y síntomas inespecíficos (Rassi Jr. et al., 2012). Los posibles signos y síntomas descritos en humanos son: fiebre, malestar general, hepatoesplenomegalia y linfocitosis atípica. En algunos casos se presenta un Chagoma, mismo que corresponde a una lesión dolorosa de 1 a 3 cm en la piel producto de la inoculación local. También se puede presentar edema. Durante la fase aguda, los parásitos se encuentran en el torrente sanguíneo, generalmente causando signos y síntomas inespecíficos (Rassi Jr. et al., 2012). Los posibles signos y síntomas descritos en humanos son: fiebre, malestar general, hepatoesplenomegalia y linfocitosis atípica. En algunos casos

Cuadro 2. Prevalencia de *T. cruzi* en perros de diferentes estados de la república mexicana

Prevalencia (%)	Estado	Referencia
50	Veracruz	Benítez-Villa et al., 2022
34	Yucatán	Jiménez-Coello et al., 2010
21	Estado de México	Estrada Franco et al., 2006
10.6	Puebla	Sosa-Jurado et al., 2004
10.2	Querétaro	Zamora-Ledesma et al., 2020
9.5	Nuevo León	Galaviz-Silva et al., 2017
8.1	Jalisco	Martínez et al., 2014
7.6	Campeche	Balan et al., 2011
4.5	Chiapas	Jiménez-Coello et al., 2010
4.44	Sonora	Arce-Fonseca et al., 2017

se presenta un Chagoma, mismo que corresponde a una lesión dolorosa de 1 a 3 cm en la piel producto de la inoculación local. También se puede presentar edema del párpado conocido como “signo de Romaña”, en caso de que la picadura alrededor de la zona periocular. La gran mayoría de las infecciones agudas nunca se detectan, en menos del 1% de las infecciones, la fase aguda es grave y pone en peligro la vida debido a meningoencefalitis o miocarditis (Bern et al., 2011).

La fase crónica comienza aproximadamente dos meses después de la infección inicial cuando la parasitemia es casi indetectable (Rassi et al., 2017) y se clasifica a su vez en dos fases; la asintomática y la sintomática. Durante la fase crónica asintomática los individuos infectados no presentan signos ni síntomas clínicos. La gran mayoría permanece en la fase asintomática de por vida sin ningún signo o síntoma clínico. En algunos individuos esta fase puede implicar años de acumulación de daño miocárdico difuso antes de la detección clínica. El desarrollo lento de cambios inflamatorios y la cicatrización del miocardio finalmente conducen a cambios en la morfología cardíaca macroscópica pasando así a la fase crónica sintomática la cual se desarrolla en el 30% de estos individuos infectados. Además de la afectación cardíaca, la enfermedad de Chagas también puede afectar el tracto gastrointestinal y el sistema nervioso (Bonney et al.2019).

La forma cardíaca es la manifestación más grave y frecuente en la fase crónica sintomática de la EC, en esta puede presentarse; arritmia, insuficiencia cardíaca y tromboembolismo (sistémico y pulmonar), estas afecciones pueden

presentarse individualmente o al mismo tiempo (Rassi et al., 2017). La muerte súbita debido a complicaciones cardíacas ocurre en un 55-65% de los pacientes debido a insuficiencia cardíaca congestiva y la tromboembolia (Barbosa y Nunes, 2012).

Aproximadamente un tercio de los pacientes en la fase crónica sintomática de la EC, presentarán la forma digestiva de la enfermedad que se caracteriza por la presencia de alteraciones en las funciones motoras, secretoras y absorbentes del tracto gastrointestinal. Pudiendo desarrollar dilatación del tracto gastrointestinal (megacolon, megaesófago, megaestómago, megaduodeno, megayeyuno, megavesícula biliar, megacolédoco), así como trastornos motores gastrointestinales, como acalasia del cardias, alteraciones del vaciamiento gástrico, tránsito intestinal alterado y trastornos motores del colon y la vesícula biliar (Troncon et al., 2000; Maneghelli, 2004; Bern et al., 2007). Se sabe que la EE. UU. causa tanto lesión del sistema nervioso central como del sistema nervioso entérico (Bern et al., 2007), por lo cual las manifestaciones gastrointestinales son principalmente el resultado de una lesión del sistema nervioso entérico (Adad et al., 2001; Takahashi, 2003; Iantorno et al., 2007; Crema et al., 2007; Silveira et al., 2007).

En el caso de la infección crónica en perros esta si comparte muchas de las características de la enfermedad de Chagas humana ya que presentan una fase aguda, una asintomática y una fase crónica asintomática. También ambos

presentan parasitemia permeable, parasitismo de miocitos, inflamación del miocardio, fibrosis y reemplazo graso en el sistema de conducción cardíaca e insuficiencia cardíaca congestiva. Además la infección canina produce fibrosis difusa, como se observa en la miocardiopatía chagásica crónica humana (Guedes et al., 2002 ;Diniz et al., 2010; Caldas et al. 2013).

Métodos de diagnóstico

Es importante recordar que para seleccionar el método de diagnóstico necesitamos tener en cuenta la etapa de infección en la que se encuentra cursando el paciente ya que la circulación de parásitos en sangre es baja e intermitente nula durante la etapa crónica de la enfermedad (Schijman, 2018).

Métodos de diagnósticos en la fase aguda: Durante la fase aguda los tripomastigotes se encuentran circulando en sangre periférica y es posible observarlos mediante las técnicas parasitológicas directas e indirectas; estas últimas permiten la multiplicación de los parásitos de la muestra, como lo son el hemocultivo y el xenodiagnóstico. La sensibilidad de las pruebas parasitológicas directas dependerá del nivel de parasitemia. Es recomendable que se realicen de manera simultánea distintas técnicas. Si el resultado es negativo con la primera muestra de sangre del paciente, se deberán realizar múltiples muestreos para repetir las pruebas, hasta la definición del caso, la desaparición de los síntomas de la fase aguda, o hasta la confirmación de otra hipótesis diagnóstica (Secretaría de Salud 2019). Dentro de las pruebas parasitológicas directas se encuentran las técnicas de concentración y de observación directa.

Una prueba parasitológica de observación directa es el frotis húmedo, el cual consiste en la búsqueda de tripomastigotes en una gota de sangre, colocada entre un portaobjetos y un cubreobjetos y observada en un microscopio (40X). En casos de transmisión vectorial, con menos de 20 días desde el inicio de los síntomas, es frecuente encontrar un parásito cada 10-50 campos. El frotis debe examinarse durante 100-400 campos antes de ser informado como negativo. En algunos casos transfusionales o de inmunosupresión, pueden observarse varios parásitos en un mismo campo. Si se encuentra un flagelado móvil y refringente, se realiza el diagnóstico. No es necesario un análisis adicional (Luquetti y Schmuñis, 2010). Cuando este método falla y persiste la sospecha clínica, se puede recurrir a un método de concentración para aumentar la sensibilidad (Luquetti et al., 2000).

Las técnicas de concentración más utilizadas son: la técnica de Strout y el microhematocrito. La técnica de Strout requiere sangre sin anticoagulante la cual se deja coagular a temperatura ambiente, posterior a esto se centrifuga a baja velocidad y se toma el sobrenadante, el cual nuevamente es centrifugado pero esta vez a alta velocidad. Por último, se toma casi la mayoría del sobrenadante, para dejar solo una última gota en el fondo del tubo; esta última gota se observa bajo el microscopio en busca de tripomastigotes. El fundamento de este método es que todos los parásitos escapan del coágulo al suero. En la técnica de microhematocrito, es mediante un capilar de vidrio el cual es centrifugado y posterior a esto el capilar de hematocrito tendrá una capa superior de plasma, la interfase donde se encuentran los leucocitos y los tripomastigotes, y una capa

inferior de concentrados de eritrocitos. Observándose bajo el microscopio la porción antes mencionada donde se encontrarán los tripomastigotes (Luquetti y Schmuñis, 2010).

Estas técnicas en general requieren poco equipo y son económicas, rápidas y sencillas de realizar (Desquesnes et al., 2022), pero estas dependen de la parasitosis presente en sangre, lo que las lleva a ser muy sensibles durante la etapa aguda de la enfermedad cuando el sistema inmune de los animales es incapaz aún de controlar la infección y muy baja o nula cuando estos se encuentran en la fase crónica o en el caso de portadores asintomáticos donde la parasitemia es menor, transitoria o incluso indetectable en sangre (Desquesnes 2004).

Los métodos parasitológicos indirectos se basan en la proliferación de parásitos en animales, triatominos o sistemas de cultivo *in vitro* (Secretaría de salud, 2014). El xenodiagnóstico fue uno de los primeros métodos de diagnóstico empleados. Consistía en exponer a los pacientes sospechosos a EC a triatominos para que se alimentarán de ellos y 30 a 60 días después de ser alimentados, examinar las heces de los triatominos para detectar la presencia de *T. cruzi*. Hoy en día ya no se expone a los pacientes a la picadura, si no que se extrae la sangre del paciente y se administra a los insectos a través de una membrana de látex (xenodiagnóstico artificial) (Santos et al., 1995). Sin embargo, el xenodiagnóstico rara vez se utiliza, ya que solo se puede realizar en los centros de referencia donde se crían triatominos (Schijman et al., 2022).

El hemocultivo se basa en cultivar la sangre de un paciente sospechoso a EC en un medio estéril, para apoyar el crecimiento de cualquier tripomastigote que se encuentre en esa muestra. Este examen se debe realizar mensualmente durante seis meses para llegar a un diagnóstico (Castro et al., 2002). Otro método poco convencional es; la inoculación de ratones con sangre de pacientes sospechosos a EC o con heces de insectos después del xenodiagnóstico, para posteriormente examinar su sangre en busca de tripomastigotes por algún método parasitológico directo (Oliveira et al., 1993).

Respecto a la sensibilidad de estas pruebas; en un meta análisis realizado sobre el diagnóstico de infección de *T. cruzi* por transmisión congénita elaborado por la OMS. Con una prevalencia del 4.7%, la tasa de pacientes incorrectamente diagnosticados como sanos sería de entre 8 y 34 por cada 1000 con la prueba del microhematocrito, de 9 (IC 95%: 3-23) de cada 1000 con la observación directa y de 21 (IC 95%: 13-30) de cada 1000 con los hemocultivos (Guidelines for the diagnosis and treatment of Chagas disease, 2018). La Secretaría de Salud (2014) indica una sensibilidad entre el 90-100% para la prueba de microconcentración de hematocrito, del 100% para la técnica de Strout y para el frotis húmedo del 80-90%.

La técnica de PCR para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en etapa aguda es considerada también como una prueba parasitológica, ya que la prueba se basa en la detección de secuencias de ADN de *T. cruzi* en muestras de sangre de pacientes. Existen diferentes técnicas de PCR; "PCR de inicio en caliente", la cual es una modificación de la PCR convencional y esta reduce la

amplificación inespecífica durante las etapas iniciales de configuración; "Nested-PCR", se basa en una amplificación en dos pasos que se utiliza a menudo para una cantidad muy baja de dianas de ADN; "Southern Blot" o "PCR e hibridación", un procedimiento utilizado para verificar la presencia o ausencia de una secuencia de nucleótidos específica en el ADN de las muestras de sangre de los pacientes mediante una sonda de hibridación marcada (Brasil et al., 2010).

En ocasiones resulta importante detectar la cantidad de tripanosomas, para indicar la gravedad de la enfermedad o para monitorear el resultado de la terapia de los pacientes infectados. En estos casos se utiliza, la técnica de PCR en tiempo real, la cual se basa en la tecnología de reacción en cadena de la polimerasa, para amplificar y cuantificar simultáneamente una molécula de ADN específica. (Brasil et al., 2010). Se han diseñado varios pares de cebadores para la amplificación por PCR del ADN *trypanosoma spp.* En América se usan los cebadores TCZ1 y TCZ2 descritos por primera vez por Moser en 1989 para la detección de *T. cruzi*.

En un meta análisis realizado por Brasil y colaboradores (2010) detectaron que la sensibilidad de la PCR, se sitúa entre el 50% y el 90%, mientras que su especificidad se acerca al 100%. El éxito de la PCR depende de la cantidad de parásitos circulantes en el torrente sanguíneo de los pacientes. *T. cruzi* circula en cantidades muy pequeñas en la fase crónica y la dinámica de su circulación no es predecible (Castro y prata, 2000). Otra causa de un falso negativo, es que la muestra recolectada del paciente infectado no presenta la suficiente cantidad de ADN de *T. cruzi*. Una posible solución a esta limitación es la recolección de varias

muestras de sangre seriadas en diferentes momentos (Castro et al., 2002) o el aumento del volumen sanguíneo por prueba (Brasil et al., 2010).

Métodos de diagnóstico en la fase crónica: la confirmación del diagnóstico en la fase crónica de la EC se hace mediante distintas pruebas serológicas, que detectan anticuerpos anti-*T. cruzi*, dentro de las principales técnicas se encuentran: las pruebas indirectas de anticuerpos fluorescentes (IFAT) y el Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) ambos detectan inmunoglobulina G (IgG) la cual presenta niveles estables durante el curso de la infección por *T. cruzi*. La seroconversión positiva se presenta aproximadamente entre los 10 y 20 días después de la infección (Desquesnes et al., 2022).

En los pacientes con EC crónica, las técnicas diagnósticas moleculares tienen un valor diagnóstico limitado, debido a que presentan una sensibilidad significativamente menor que las pruebas serológicas. (Schijman et al., 2011; Brasil et al., 2010). Esto puede estar relacionado con niveles bajos y variables de parasitemia durante la fase crónica de la enfermedad en el torrente sanguíneo (Hernández et al., 2016; Ramirez et al., 2015).

La técnica de ELISA, se basa en el contacto del suero de los pacientes con antígenos del parásito adheridos al material plástico tratado de un pocillo de microplaca. Estos antígenos pueden ser lisados de parásitos enteros inactivados, lo que puede conducir a una reactividad cruzada con antígenos de otros tripanosomátidos como *Leishmania spp.*, o proteínas modificadas recombinantes (Schijman et al., 2022). Gracias a los avances en ingeniería genética se ha

logrado la construcción de antígenos recombinantes (Umezawa et al., 2003) basados en proteínas quiméricas compuestas por fragmentos de aminoácidos inmunodominantes repetitivos y conservados de varias proteínas de *T. cruzi* (Del-Rei et al., 2019). Brasil y colaboradores (2010), notificaron una sensibilidad del 99,3% [97,9%-99,9%] y una especificidad del 97,5% [88,5%-99,5%] en ELISA comercial con antígenos recombinantes.

El ensayo de hemaglutinación indirecta (IHA), es el método de diagnóstico serológico más simple y menos costoso. Es un procedimiento de pocos pasos, reduciendo así errores de manipulación. Los glóbulos rojos sensibilizados de una especie animal (generalmente ovejas) y el suero del paciente se ponen en contacto durante 1 o 2 horas. Después de este tiempo, si los anticuerpos específicos del parásito están presentes en los sueros, los glóbulos rojos forman una red en el fondo del tubo o pocillo, que se lee a simple vista. Si el sedimento de glóbulos rojos en el fondo es un punto, la reacción se interpreta como negativa. Las diluciones seriadas permiten estimar el título de la reacción (Schijman et al., 2022).

Las pruebas de inmunofluorescencia indirecta presentan algunas limitaciones notables. Entre ellas se encuentra la necesidad de un microscopio fluorescente para su ejecución, así como la exigencia de múltiples pasos de incubación, lo que conlleva un tiempo considerable. Además, la interpretación de los resultados está sujeta a la destreza del operador. A pesar de estas consideraciones, estas pruebas ofrecen una alta sensibilidad, superando el 99%. Sin embargo, su especificidad no alcanza el mismo nivel, siendo ligeramente

inferior, con una tasa superior al 96%. Este aspecto se ve especialmente afectado por la presencia de reactividad cruzada con diversas enfermedades, siendo más prominente en muestras con títulos bajos, que oscilan entre 1/40 y 1/80 (Luquetti et al. en 2017).

Las pruebas de diagnóstico rápido (PDR) son alternativas valiosas en zonas remotas donde se dificulta el diagnóstico mediante las pruebas antes mencionadas. Las PDR son pruebas inmunocromatográficas en las que se sensibiliza una membrana con varios antígenos recombinantes y se pone en contacto con ella un pequeño volumen de suero o sangre entera, no requieren equipos específicos para la incubación o lectura de resultados, y permiten una rápida entrega de resultados entre 10 minutos y menos de 1 h. (Luquetti et al., 2003; Sánchez-Camargo et al., 2014). Sin embargo, no se puede confirmar el diagnóstico hasta que se realice una segunda prueba convencional (WHO, 2012). Angheben y colaboradores (2019) evaluaron las PDR para el diagnóstico de EC crónica en cohortes de estudios seleccionados. Su precisión global fue del 96,6% de sensibilidad (intervalo de confianza [IC] del 95%: 91,3-98,7%) y especificidad del 99,3% (IC del 95%: 98,4-99,7%). Las PDR evaluadas mostraron una mejor precisión cuando se utilizaron en áreas endémicas con 98,1% de sensibilidad y 99,3% de especificidad, mientras que en áreas no endémicas su sensibilidad fue de alrededor del 90%.

De acuerdo al algoritmo el diagnóstico del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (INDRE), la EC en su evolución natural se divide en fase aguda y fase crónica asintomática y sintomática. El abordaje

serológico (fase crónica) con o sin síntomas, se confirma principalmente por serología positiva. En fase aguda, el diagnóstico se confirma al demostrar la presencia del *T. cruzi* por estudio directo, por técnicas de concentración, cultivo o sub-inóculo de sangre y/o por serología positiva a partir de las 4 semanas de infección. La confirmación del diagnóstico por laboratorio se establece por la demostración del parásito o bien por al menos dos pruebas serológicas de diferente formato con resultado positivo.

La recomendación de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) es utilizar al menos dos pruebas serológicas basadas en diferentes principios técnicos para evitar resultados falsos (OPS, 2020). Sin embargo, estudios recientes han demostrado que, en zonas endémicas, la combinación de dos PDR podría permitir el diagnóstico de individuos infectados por *T. cruzi* en el campo, con la misma precisión que la que proporciona el realizar dos pruebas diagnósticas de laboratorio (Egüez et al., 2017; Mendicino et al., 2019; Lozano et al., 2019).

De acuerdo a los criterios de seropositividad, la Secretaría de Salud (2015) mencionan que el uso de 2 reacciones serológicas de diferente principio; ELISA-crudo/ELISA-recombinante, o HAI/ELISA-recombinante, presenta una certeza diagnóstica entre el 98 y 99.5 % y que resultados séricos con reactividades discordantes deberán ser sometidos a una tercera evaluación con otra técnica (IFI), en caso de repetirse la discordancia se tendrá que realizar nuevamente el procedimiento con una nueva muestra de sangre. Debido a que la reactividad en

una sola prueba serológica, no se considera como una muestra positiva para *T. cruzi*.

Uno de los principales obstáculos para el estudio de los reservorios silvestres es la falta de reactivos específicos de la especie para las pruebas serológicas. Estas pruebas son indispensables porque detectan animales infectados que tienen una parasitemia baja e indetectable, como lo demuestran las pruebas parasitológicas negativas, es decir, un bajo potencial de infectividad. De acuerdo con Jansen y colaboradores (2018). Lo ideal sería emplear dos pruebas serológicas y dos pruebas parasitológicas con sensibilidad distinta. En el cuadro 3 se nombran algunas de las pruebas serológicas de uso humano que se han utilizado en animales.

Cuadro 3. Pruebas serológicas rápidas utilizadas en animales para la detección de *T. cruzi*

Especie	Nombre de la prueba	Referencia
Perro	Chagas Stat-Pak	Meyers et al., 2019
	(ChemBio Diagnostic Systems Inc., Medford, NY)	Curtis-Robles et al., 2017
	Chagas Detect Plus Rapid Test	Busselman et al., 2021
	(InBios International, Inc., Seattle, WA, USA)	Meyers et al., 2019
		Meyers et al., 2017
		Nieto et al., 2009
		Cardinal et al., 2006
	Chagas Sero K-SeT Coris BioConcept	Murphy et al., 2019
	Lateral Flow	Rodrigues et al., 2022
	Immunochromatographic Rapid Test (Chagas-LFRT)	
	Bio-Manguinhos	
	Chagas Stat-Pak	Dumonteil et al., 2021
Gato	(ChemBio Diagnostic Systems Inc., Medford, NY)	

	Chagas Detect Plus Rapid Test (InBios International, Inc., Seattle, WA, USA)	Zecca et al., 2020
Mapaches	Chagas Stat-Pak (ChemBio Diagnostic Systems Inc., Medford, NY)	Charles et al., 2013 Yabsley et al., 2009
Armadillos	Chagas Sero K-SeT Coris BioConcept	Murphy et al., 2019
Zorrillos	Chagas Stat-Pak (ChemBio Diagnostic Systems Inc., Medford, NY)	Charles et al., 2013
Roedores	Chagas Stat-Pak (ChemBio Diagnostic Systems Inc., Medford, NY)	Charles et al., 2013 Yabsley et al., 2009
	Chagas Sero K-SeT Coris BioConcept	McClean et al., 2020
	Chagas Stat-Pak	Kendricks et al., 2020

Primates (ChemBio Diagnostic Systems Inc.,
Medford, NY)

Chagas Sero K-SeT Coris McClean et al., 2020
BioConcept

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La enfermedad de Chagas está clasificada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) dentro del grupo de enfermedades tropicales desatendidas. Se estima que actualmente están infectadas de 6 a 7 millones de personas en el mundo (OMS 2024). Es un importante problema de salud pública en América Latina debido a que puede causar insuficiencia cardíaca en un 20-30% de los individuos infectados o muerte súbita asociada con daño cardíaco progresivo.

En México la seroprevalencia nacional estimada de infección por *T. cruzi* en humanos es del 3.38%, lo que sugiere que hay 4.06 millones de casos en el país (Arnal et al., 2019). En el período del 2014 al 2023 el SINAVE notificó un total de 19 casos de la enfermedad de Chagas en humanos en el estado de Baja California, de los cuales 9 fueron notificados en 2023. En Ensenada se notificó una prevalencia estimada del 1.7% de enfermedad de Chagas en humanos (Pallarés et al., 2014) y en un estudio realizado a donadores de sangre de bancos del Instituto Mexicano de Seguridad Social (IMSS) entre 2008 y 2009; se notificó una prevalencia del 0.406 % y del 0.21% en Mexicali, B. C. (Novelo-Garza, et al., 2010).

Los perros destacan como hospederos de *T. cruzi*, con un contacto directo en los casos de infección humana (Mendes et al., 2013; Gürtler y Cardinal, 2015). La presencia de este mamífero en las viviendas humanas puede aumentar el riesgo de infección por *T. cruzi* a los humanos hasta cinco veces (Turriago et al.,

2008). Distintos estudios que estiman la seroprevalencia de infección de *T. cruzi* en perros en México demuestran una relación directa con la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en humanos (Sosa-Jurado et al., 2004; Estrada-Franco et al., 2006; Jiménez-Coello et al., 2010). Sin embargo, en el estado de Baja California México, no se han realizado estudio sobre la infección por *T. cruzi* en perros pese a la importancia de este hospedero en el ciclo de transmisión de este parásito.

JUSTIFICACIÓN

El perro, desempeña un papel crucial como centinela en el diagnóstico de enfermedades zoonóticas, no solo actúa como indicador temprano de la presencia de patógenos que pueden transmitirse de animales a humanos, sino que también vincula los ciclos doméstico y silvestre de *T. cruzi*, lo que refuerza la importancia de su estudio en áreas endémicas (Roque y Jansen, 2008; Ramírez et al., 2013; Xavier et al., 2014).

El perro es considerado el hospedero doméstico más importante en los diferentes ciclos de transmisión que presenta de *T. cruzi*, debido principalmente a que es una importante fuente de alimentación para los triatomíneos (Arce-Fonseca et al., 2017). Además, el perro puede infectarse a través de diferentes vías, como: la transmisión oral por ingerir insectos o presas infectadas (Montenegro et al., 2002), la transmisión transplacentaria (Torrico et al., 2004; Rodríguez-Morales et al., 2011) y la transmisión transmamaria (Barr et al., 1992). Por lo anteriormente descrito, es imperativo realizar estudios que permitan identificar si existe infección por *T. cruzi* en perros en regiones aún no exploradas como Mexicali, México. Los hallazgos de esta investigación constituirán el primer reporte acerca de la situación de infección por *T. cruzi* en perros de Baja California.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe infección por *Trypanosoma cruzi* en perros (*Canis lupus familiaris*) del centro de control animal de Mexicali, México?

OBJETIVO GENERAL

Determinar si existe evidencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en perros (*Canis lupus familiaris*) del centro de control animal de Mexicali Baja California, México.

Objetivos específicos

Determinar la presencia de infección aguda por *Trypanosoma cruzi* en perros (*Canis lupus familiaris*) del centro de control animal de Mexicali Baja California, mediante técnicas parasitológicas directas.

Determinar la presencia de infección aguda por *Trypanosoma cruzi* en perros (*Canis lupus familiaris*) del centro de control animal de Mexicali Baja California, mediante técnicas de biología molecular.

Determinar la presencia de infección crónica con *Trypanosoma cruzi* en perros (*Canis lupus familiaris*) del centro de control animal de Mexicali Baja California, mediante la detección de anticuerpos utilizando las técnicas de ELISA y reacción de hemaglutinación indirecta.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio

Estudio epidemiológico transversal extendido

Lugar de estudio

El estudio se realizó en el Centro Municipal de Control Animal (CMCA) de Mexicali, Baja California, México. Este centro es el principal responsable de supervisar la población canina en las zonas urbanas y periurbanas de Mexicali. De forma rutinaria el personal del CMCA atrapa a los perros que deambulan en las vías públicas y la permanencia de estos en el centro es variable y se basa en su estado de salud con la opción de adopción. Mexicali es una ciudad fronteriza que se encuentra entre los paralelos 30° 51' y 32° 43' de latitud norte; los meridianos 114° 43' y 115° 51' de longitud oeste; altitud entre -3 y 1 900 m. Colinda al norte con los Estados Unidos de América; al este con los Estados Unidos de América, el estado de Sonora y el Golfo de California; al sur con el Golfo de California y el municipio de Ensenada; al oeste con los municipios de Ensenada y Tecate. El clima es extremadamente árido, marcado por elevadas temperaturas durante el verano que pueden exceder los 45°C y un promedio anual de lluvias inferior a 100 mm (INEGI, 2010). Estas condiciones meteorológicas, sumadas a la gran cantidad de mascotas y la cercanía a zonas rurales, generan un ambiente favorable para la aparición de vectores de *T. cruzi*, como los triatominos

Duración del estudio

El estudio tuvo una duración de 6 meses (marzo a agosto 2023).

Origen de la información

Se recolectaron muestras de sangre de perros capturados en el Centro Municipal de Control Animal de Mexicali, B.C. (CEMCA). El presente proyecto recibió la aprobación del Comité de ética de IICV.

Criterios de Inclusión y exclusión:

Se incluyeron en el estudio todos los perros mayores de 1 mes, de ambos sexos. Se excluyeron del estudio todos los perros menores de 1 mes y a los que por cuestiones de conducta no sea posible muestrear.

Cuestionario epidemiológico

Por cada animal muestreado se utilizó un cuestionario epidemiológico para registrar datos claves tales como: hora de la toma de muestra, talla, sexo, edad aproximada, condición corporal, temperatura corporal, estado de conciencia, pulso, auscultación cardíaca, frecuencia cardíaca y palpación de nódulos linfáticos. La captura y manejo de la información generada fue capturada en una base de datos en el programa Excel.

Análisis estadístico:

La prevalencia de la enfermedad se determinó a partir del cociente del número de casos positivos entre el número total de muestras analizadas en el periodo del estudio. La prevalencia es igual al número de casos positivos entre el total de muestras analizadas.

Metodología

Tamaño de muestra: para el cálculo se consideraron las siguientes variables: tamaño de población de perros capturados por el CEMCA 3500 (datos proporcionados por la institución) y con una prevalencia esperada del 4.4 %, reportada en Sonora, estado colindantes a la región. El tamaño de muestras fue de 64 animales, sin embargo, en este trabajo se muestrearon un total de 86 animales.

Obtención de la muestra: las muestras fueron colectadas por medio de venopunción en las venas cefálica o yugular con aguja calibre 21 en un volumen de entre 1-5 ml. Se colocaron al menos 0.5 mL en tubos Vacutainer® con anticoagulantes EDTA y el resto en un tubo sin anticoagulante (BD, Franklin Lakes, NJ, USA). Todas las muestras de sangre se mantuvieron a 4 ° C en un contenedor con hielo para su traslado al laboratorio para posterior procesamiento.

Técnica de microconcentración: se llenó un capilar con la muestra de sangre contenida en un tubo de EDTA. El capilar, se llevó a centrifugación durante 5 minutos a 10.000 rpm. Se adhirió el capilar a una lámina portaobjetos usando cinta adhesiva. y se observó directamente en la capa leucoplaquetaria. Se inició el enfoque con el objetivo de 10x buscando el movimiento de los tripanosomas, para posteriormente pasar al objetivo de 40x.

Frotis de capa leucoplaquetaria: se realizaron frotis de la capa leucoplaquetaria mediante la técnica de microconcentración, la cual se obtuvo mediante la centrifugación de un capilar de microhematocrito a 3500 rpm durante 5 minutos. Posteriormente, se llevó a cabo un frotis de la porción leucoplaquetaria

de la sangre total y se tiñó con tinción Diff-Quik. Todos los frotis de la capa leucoplaquetaria se revisaron en el microscopio bajo los objetivos de 10x, 40x y 100x en busca de tripanosomas.

Extracción de ADN: Para extraer el ADN, se utilizó la capa flogística. Para la obtención de la capa flogística se centrifugó el tubo con la muestra de EDTA a 3500 rpm durante 10 min, posterior a esto con ayuda de una pipeta de transferencia se tomó la porción de la capa flogística y se colocó en un microtubo de 1.5 ml esteril para después proceder a realizar la extracción de ADN, utilizando el Kit de extracción de ADN genómico PureLink™ (Invitrogen®, Carlsbad, USA), de acuerdo con el protocolo recomendado por el fabricante. Al finalizar la extracción, se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1%, con el fin de conocer la calidad del ácido nucleico. El ADN se almacenó a -20 °C hasta su posterior procesamiento.

Reacción en cadena polimerasa: se realizó la amplificación del ADN de *T. cruzi* mediante PCR, utilizando los primers TCZ 1 y TCZ 2 (Moser et al., 1998). Las amplificaciones se realizaron en un termociclador de marca Thermo Hybadid™ (EE.UU.) Los productos de la PCR se separaron en un gel de agarosa (0.9%) teñido con bromuro de etidio para visualizarlo en un transiluminador UV. Si la porción de 188pb se visualiza, la muestra se clasificará como positiva.

Ensayo inmunoenzimático (ELISA): Se utilizó el Kit Wiener Chagatest ELISA recombinante v.4.0 el cual es un ensayo inmunoenzimático "*in vitro*" para la detección cualitativa de anticuerpos anti-*T. cruzi* en muestras de suero. Las muestras fueron analizadas por duplicado, y se diluyeron en una policubeta,

cuyos pocillos se encuentran sensibilizados con seis antígenos recombinantes (SAPA, 1, 2, 13, 30 y 36) específicos de los estadios epimastigote y tripomastigote del *T. cruzi*, de acuerdo a las especificaciones del fabricante.

Reacción de hemoaglutinación indirecta (HAI): Se utilizó el Kit Wiener Chagatest HAI, el cual es una prueba de hemaglutinación indirecta para la detección de anticuerpos contra *T. cruzi*. Se realizaron diluciones del suero 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 según las indicaciones del fabricante. Se consideraron positivas cuando los sueros son reactivos en diluciones mayores o iguales a 1/8 (Chagatest Hai W.L).

Criterios de diagnóstico de infección por *T. cruzi*

De acuerdo al manual de diagnóstico de la enfermedad de Chagas de la secretaría de salud (2015), el empleo de dos pruebas serológicas con principios diferentes, presentará una certeza diagnóstica entre el 98 y 99%. Tomando esto en consideración, en esta investigación será considerada una muestra como positiva, si ocurre uno de los siguientes supuestos: si la muestra resulta positiva a ambas pruebas serológicas (HAI y ELISA), si se detecta el parásito en sangre por medio de la evaluación del frotis de la capa leucoplaquetaria y/o si cumple los criterios de positividad de PCR (188 pares de bases) (cuadro 4).

Cuadro 4. Criterios de positividad de la muestra

Técnica de ELISA	Técnica HAI	Detección del parásito en frotis	PCR	Clasificación de la muestra
+	+	+	+	Positivo
+	+	+	-	Positivo
+	+	-	+	Positivo
+	+	-	-	Positivo
+	-	-	+	Positivo
+	-	+	-	Positivo
-	+	+	-	Positivo
-	+	-	+	Positivo
-	-	-	-	Negativo
+	-	-	-	Negativo
-	+	-	-	Negativo

RESULTADOS

En total se obtuvieron un total de 86 muestras. El 51% (44) de los perros eran machos y el 49% (42) hembras. Respecto a las edades el 59.3% (51) tenían entre 1 y 5 años, el 23.3% (20) eran menores de un año y el 17.4% (15) eran mayores de 5 años. El 91.9% (79) del total de las muestras provienen de perros capturados en la zona urbana de la ciudad de Mexicali y 8.1% (7) de una zona rural del valle de Mexicali. El 48.8% (42) fueron recolectadas durante la primavera (marzo-mayo) y el 51.2 % (44) en el verano (junio-agosto).

El 58.1% (50/86) de los perros presentaban una buena condición corporal mientras que el 41.9% (36/86) presentaba una condición corporal pobre. El 65.5% (55/86) de los perros presentaba hipertermia, mientras que el 34.5% (29/86) no presentaba.

Todas las pruebas de microconcentración de hematocrito resultaron negativas a *T. cruzi*. Sin embargo, en 1 muestra (n=86) se observaron microfilarias. Respecto a la revisión de los frotis sanguíneos, todos resultaron negativos a *T. cruzi*.

Todas las muestras resultaron negativas a *T. cruzi* mediante PCR.

De acuerdo a los criterios de seropositividad antes establecidos (cuadro 3), dos muestras resultaron positivas a ambos estudios serológicos (HAI y ELISA), por lo tanto, se encontró una seropositividad del 2.3 % (2/86). En el cuadro 5 se muestran las características de los perros correspondientes a las muestras positivas.

Cuadro 5. Cuadro de Características de Perros Positivos a *T. cruzi*

Variable	Muestra 1	Muestra 2
Sexo	Macho	Hembra
Edad	> 5 años	> 5 años
Condición corporal	2/5 (Pobre)	3/5 (Buena)
Fiebre	No	Sí
Talla	Mediana	Grande
Estación de muestreo	Verano	Verano
Tipo de población	Urbana	Urbana
Pruebas de diagnóstico		
- ELISA	Positivo	Positivo
- Frotis de capa leucoplaquetaria	Negativo	Negativo
- Prueba de microconcentración	Negativo	Positivo (microfilariosis)
- PCR	Negativo	Negativo
- HAI	Positivo	Positivo

DISCUSIÓN

Este es el primer informe sobre infección con *T. cruzi* en perros del estado de Baja California. Los perros son considerados el hospedero doméstico más importante en los diferentes ciclos de transmisión que presenta de *T. cruzi*, debido principalmente a que son una importante fuente de alimentación para los triatomíneos (Arce-Fonseca et al., 2017). Estos, además, se pueden infectar a través de diferentes vías de transmisión, como: la transmisión por vía oral al ingerir insectos o presas infectadas (Montenegro et al., 2002), la transmisión transplacentaria (Torrico et al., 2004; Rodríguez-Morales et al., 2011) y la transmisión transmamaria (Barr et al., 1992).

La infección con *T. cruzi* se desarrolla en dos etapas clínicas, la aguda y la crónica, y para diagnosticarlas es necesario realizar diferentes pruebas diagnósticas para cada etapa. En el presente estudio se identificó una prevalencia de 2.3 % (2/86) de la infección por *T. cruzi* en perros del centro de control animal, capturados en verano en un área urbana de Mexicali Baja California los cuales se encontraban cursando la etapa crónica de la EC, esto puede deducirse debido a la presencia únicamente de anticuerpos anti *T. cruzi* (serología positiva) y parasitemia indetectable mediante métodos parasitológicos directos (PCR, técnica de microconcentración y frotis de capa leucoplaquetaria negativos). En un estudio realizado en Sonora, Baja California se encontró una seroprevalencia del 4.44% (8/180) mediante ELISA y confirmación mediante

Inmunofluorescencia indirecta. Los perros muestreados tenían dueño sin embargo, estos tenían acceso a la calle y a la casa de los dueños. En otro estudio realizado a 10 centros de control animal, en el centro y sur de Texas, se examinaron 164 perros de los cuales; 30 perros se determinaron como seropositivos, se le dio seguimiento a 30 perros con resultado negativo durante 12 meses y un total de 10 perros se convirtieron en positivo a lo largo del estudio, lo que resultó en una tasa de incidencia de 30.7 nuevas infecciones por cada 100 perros por año (Busselman et al., 2021), esto señala la importancia de realizar más estudios para determinar los factores de riesgo y los mecanismos de transmisión de *T. cruzi* que presentan los perros del centro de control animal de Mexicali B. C.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las características de la población estudiada y la positividad de las pruebas y esto puede deberse a que la prevalencia resultó ser baja y el número de animales positivos es demasiado pequeño para detectar diferencias significativas.

Los animales positivos a la infección fueron identificados mediante la detección de anticuerpos contra *T. cruzi* mediante las técnicas de ELISA y HAI. Sin embargo, todas las pruebas diagnósticas para identificar la infección aguda (búsqueda parasitaria directa y PCR) resultaron negativas en todos los perros incluídos en el estudio. Los análisis basados en PCR han sido exhaustivamente documentados y parecen ser un método eficaz para la detección fácil y fiable del ADN de *T. cruzi* (Marcon et al., 2002; Vera-Cruz et al., 2003; Virreira et al., 2003) demostrando alta sensibilidad en comparación con otros métodos parasitológicos

indirectos como el xenodiagnóstico y el hemocultivo (Portela-Lindoso y Shikanai-Yasuda, 2003; Ministério da Saúde, 2005; Lages-Silva et al., 2006). El ADN satélite de *T. cruzi*, que se presenta en un gran número de copias en el genoma, es un blanco adecuado para un diagnóstico específico basado en PCR de la enfermedad de Chagas en muestras de sangre, lo que asegura una alta sensibilidad. Además, los cebadores TCZ1 y TCZ2 excluyen la amplificación de secuencias en otros protozoos filogenéticamente cercanos a *T. cruzi*, evitando así resultados falsos positivos (Batista et al, 2010). El éxito de la PCR depende de la cantidad de parásitos presentes en la circulación sanguínea de los pacientes. Durante la fase crónica, *T. cruzi* circula en cantidades muy reducidas y su dinámica de circulación es impredecible (Castro y Prata, 2000). Es probable que, incluso en presencia de infección en un paciente, la muestra recolectada puede no contener una cantidad suficiente de ADN del parásito, lo que podría resultar en un resultado negativo o indetectable en la prueba y por eso esta prueba no es recomendada para el diagnóstico de la infección crónica. Por otra parte, las pruebas parasitológicas directas mediante microscopía realizadas (técnica de microconcentración y frotis de capa leucoplaquetaria). La Secretaría de Salud (2015) indica una sensibilidad entre el 90-100% para la prueba de microconcentración de hematocrito, por lo que se hipotetiza que el hallazgo de el 100% de las pruebas negativas a búsqueda parasitaria puede responder a que ninguno de los animales muestreados presentaban la etapa aguda de la infección durante el muestreo.

Se ha registrado la presencia de *Triatoma recurva* en los estados de Chihuahua, Sonora y Sinaloa, tanto en las viviendas de los residentes como en sus alrededores peridomiciliarios. En los estados de Jalisco, Nayarit, Colima y Sonora, se ha documentado la presencia de *Triatoma rubida* y *Triatoma longipennis* como insectos en proceso de adaptación para colonizar viviendas humanas y como vectores significativos de la enfermedad de Chagas (Salazar-Schettino et. al., 2010). En Baja California han sido documentada la presencia de *Paratriatoma hirsuta*, *Triatoma proctata*, *Triatoma rubida* (Secretaría de Salud, 2019). Y recientemente Waleckx y colaboradores, 2023 informaron la colección de ejemplares de *Paratriatoma hirsuta* en el estado de Baja California. Por lo tanto, es plausible que los anticuerpos contra *T. cruzi* encontrados en perros domésticos en el área de estudio sean indicativos de una transmisión activa del parásito por vías vectoriales. Se necesitan más estudios para determinar las vías de transmisión de la enfermedad de chagas en esta región.

El estado de Baja California no es considerado una zona endémica de la enfermedad de Chagas, sin embargo de acuerdo al boletín anual (2023) de la Organización Internacional para las Migraciones (OIM), en el año 2023 se registraron 33,939 eventos de personas en situación migratoria, correspondiendo principalmente a personas originarias de Venezuela, Honduras y Guatemala, estos países son considerados endémicos de la enfermedad de chagas, esto podría ser considerado como un importante factor de riesgo para la transmisión de *T. cruzi* en la región.

CONCLUSIONES

El presente estudio es el primer informe de la infección por *T. cruzi* en animales en el estado de Baja California.

No se encontró evidencia molecular ni parasitaria de infección en ninguna de las muestras de sangre de perros analizadas, por lo que se considera que ninguno de los perros muestreados se encontraba cursando la fase aguda de la enfermedad durante el momento del estudio.

Se informa una prevalencia serológica de 2.3%, y según el comportamiento biológico de la enfermedad, se hipotetiza que ambos casos identificados se encontraban cursando la etapa crónica de la enfermedad de Chagas.

Es necesario realizar más estudios que incluyan un mayor número de muestras de perros, así como, incluir las diversas poblaciones humanas, animales y las diferentes áreas geográficas del estado para determinar la situación epidemiológica en la región.

LITERATURA CITADA

- Adad S. J., Cancado C. G, Etchebehere R. M., Teixeira V. P. and Gomes U. A., Chapadeiro. 2001. Neuron count reevaluation in the myenteric plexus of chagasic megacolon after morphometric neuron analysis. *Virchows Arch.* 438:254-8.
- Angheben A., Buonfrate D., M. Cruciani, Y. Jackson, J. Alonso-Padilla and J. Gascon J. 2019. Rapid immunochromatographic tests for the diagnosis of chronic Chagas disease in at-risk populations a systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis.* 3(5).
- Antinori S., L. Galimberti, R. Bianco, R. Grande, M. Galli and M. Corbellino. 2017. Chagas disease in Europe: a review for the internist in the globalized world. *Eur. J. Intern. Med.* 43 6–15.
- Araujo C. A, P. J. Waniek, S. C. Xavier and A. M. Jansen. 2011. Genotype variation of *Trypanosoma cruzi* isolates from different Brazilian biomes. *Exp Parasitol* 127:308–312.
- Araújo-Neto V.T.D., N. R. Medeiros, R. De Oliveira, A. N. Barbosa-Silva, P. M. Da Matta, E. Chiari, L. M. Da Cunha and A. C. Jácome. 2019. *Trypanosoma cruzi* circulating among dogs and triatomines in the endemic countryside of the State of Rio Grande do Norte, Brazil. *Acta Trop.* 200:105067.
- Arce-Fonseca M., S. C. Carrillo-Sánchez, R. M. Molina-Barrios, M. Martínez-Cruz, J. R. Cedillo-Cobián, Y. A. Henao-Díaz & O. Rodríguez-Morales.

- Seropositivity for *Trypanosoma cruzi* in domestic dogs from Sonora, Mexico. 2017. *Infectious Diseases of Poverty*. 6(120):2-7.
- Ardente N.C., A. C. Ferreguetti, D. Gettinger, P. Leal, A. C. Mendes-Oliveira, F. Martins-Hatano and H. G. Godoy. 2016. Diversity and impacts of mining on the NonVolant small mammal communities of two vegetation types in the Brazilian Amazon. *PLOS One* 11:1-16.
- Arnal A, Waleckx E, Rico-Chávez O, Herrera C, Dumonteil E. 2019. Estimating the current burden of Chagas disease in Mexico: A systematic review and meta-analysis of epidemiological surveys from 2006 to 2017. *PLoS Negl Trop Dis* 13(4).
- Atias A., M. Lorca, M. Canales, R. Mercado, V. Reyes and R. Child. 1984. Enfermedad de Chagas: transmision por transfusion sanguinea en Chile. *Bol. Hosp. San Juan Dios. (Santiago)*. 31:301-6.
- Aysanoa E., P. Mayor, A. P. Mendoza, C. M. Zariquiey, E. A. Morales, J. G. Pérez, M. Bowler, J. A. Ventocilla, C. González, G. C. Baldeviano and A. G. Lescano. 2017. Dec. Molecular Epidemiology of Trypanosomatids and *Trypanosoma cruzi* in Primates from Peru. *Ecohealth* 14 (4):732–742.
- Balan L. U, I. M. Yerbes, M. A. Piña, J. Balmes, A. Pascual, O. Hernández O, R. Lopez and V. Monteón. 2011. Higher seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in dogs than in humans in an urban area of Campeche, Mexico. *Vector Borne Zoonotic* 11(7):843-4.

- Batista, A. M., C. Aguiar, E. A. Almeida, M. E. Guariento, J. S. Wanderley and S. C. B. Costa. 2010. Evidence of Chagas disease in seronegative Brazilian patients with megaesophagus. *International Journal of Infectious Diseases*, 14(11):e974-e977.
- Barbosa, M. M. and M. C. P. Nunes. 2012. Estratificación del riesgo en la enfermedad de Chagas. *Revista Española de Cardiología. Sociedad Española de Cardiología*. 65(2):17-21.
- Barr, S. C., R. A. Holmes and T. R. Klei. 1992. Electrocardiographic and echocardiographic features of trypanosomiasis in dogs inoculated with North American *Trypanosoma cruzi* isolates. *Am J Vet Res*. 53:521–527
- Barros F. D. N. L., F. Dantas Jr., S. De Mamedes, D. M. De Farias, M. A. Oliveira, P. Soares Jr., G. Góes-Cavalcante and A. Scofield. 2020. First report of natural infection by *Trypanosoma cruzi* in secretions of the scent glands and myocardium of *Philander opossum* (Marsupialia: Didelphidae): Parasitological and clinicopathological findings, *Vet. Parasitol.: Regional Studies and Reports*. 22:1-5.
- Benítez-Villa G. E., A. López-Monteon, E. Waleckx, E. Dumonteil, A. J. Márquez-Fernández, M. J. Roviroso-Hernández, F. Orduña-García, D. Guzmán-Gómez and A. Ramos-Ligonio. 2022. Presence of Anti-*T. cruzi* Antibodies in Inhabitants and Dogs of Two Rural Settlements in the Sierra de Los Tuxtlas, Veracruz, Mexico. *Acta Parasitol*. 67(3):1136-1144.

- Bern C., S. P. Montgomery, B. L. Herwaldt, A. Jr. Rassi, J. A. Marin-Neto and R. O. Dantas. 2007. Evaluation and treatment of Chagas disease in the United States: A systematic review. *JAMA*. 298:2171-81.
- Bern C., S. Kjos, M. J. Yabsley and S. P. Montgomery. 2011. *Trypanosoma cruzi* and chagas disease in the United States. *Clin Microbiol Rev* 2011. 24:655–681.
- Bianchi R.C., R. C. Campos, N. L. Xavier-Filho, N. Olifiers, M. E. Gompper and G. M. Mourão. 2014. Intraspecific, interspecific, and seasonal differences in the diet of three mid-sized carnivores in a large Neotropical wetland. *Acta Theriol*. 59:13–23.
- Bonney, K. M., D. J. Luthringer, S. A. Kim, N. J. Garg and D. M. Engman. 2019. Pathology and Pathogenesis of Chagas Heart Disease. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 14:421–447.
- Bosseno M. F., C. Barnabé, M. J. Sierra, P. Kengne, S. Guerrero, F. Lozano, K. Ezequiel, M. Gastélum and S. F. Brenière. 2009. Wild ecotopes and food habits of *Triatoma longipennis* infected by *Trypanosoma cruzi* lineages I and II in Mexico. *Am J Trop Med Hyg*. 80(6):988-991.
- Brasil, P. E. A. A., L. De Castro, A. M. Hasslocher-Moreno, L. H. C. Sangenis and J. U. Braga. 2010. ELISA versus PCR for diagnosis of chronic Chagas disease: systematic review and meta-analysis. *BMC Infectious Diseases*. 10:337.

- Busselman R. E., A. C. Meyers, I. B. Zecca, L.D Auckland, A. H. Castro and R. E. Dowd. 2021. High incidence of *Trypanosoma cruzi* infections in dogs directly detected through longitudinal tracking at 10 multi-dog kennels, Texas, USA. *PLoS Negl Trop Dis* 15(11).
- Caldas I. S., P. M. M. Guedes, F. M. dos Santos, L. F. Diniz, T. A. Martins, A. F. S. do Nascimento, M. A. Azevedo, W. G. de Lima, R. M. Neto, R. M. Torres, A. Talvani and M. T. Bahia. 2013. Myocardial scars correlate with electrocardiographic changes in chronic *Trypanosoma cruzi* infection for dogs treated with benznidazole. *Trop Med Int Health*. 55:75–84.
- Cardinal, M. V., R. Reithinger and R. E. Gürtler. 2006. Use of an immunochromatographic dipstick test for rapid detection of *Trypanosoma cruzi* in sera from animal reservoir hosts. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(8):3005–3007.
- Castro, A., A. Luquetti, A. Rassi, G. Rassi, E. Chiari and L. Galvão. 2002. Blood culture and polymerase chain reaction for the diagnosis of the chronic phase of human infection with *Trypanosoma cruzi*. *Parasitology research*, 88:894-900
- Castro C. and A. Prata. 2000. Absence of both circadian rhythm and *Trypanosoma cruzi* periodicity with xenodiagnosis in chronic chagasic individuals. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 33:427-430.

- Cazorla-Perfetti, D. 2016. Revisión de los vectores de la enfermedad de Chagas en Venezuela (Hemiptera-Heteroptera, Reduviidae, Triatominae). Saber, Universidad de Oriente. 28(3):387-470.
- Cerisola J. A, A. Rabinovich, M. Alvarez, C. A. Di Corleto and J. Pruneda. 1972. Enfermedad de Chagas y la transfusion de sangre. Bol Of Sanit Panam. 73:203-21.
- Charles, R. A., S. Kjos, A. E. Ellis, J. C. Barnes and M. J. Yabsley. 2013. Southern Plains Woodrats (*Neotoma micropus*) from Southern Texas are important reservoirs of two genotypes of *Trypanosoma cruzi* and host of a putative novel *Trypanosoma* species. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 13(1): 1-5.
- Chin-Hong P. V., B. S. Schwartz, C. Bern, S. P. Montgomery, S. Kontak, B. Kubak, M. I. Morris, M. Nowicki, C. Wright and M. G. Ison. 2011. Screening and treatment of Chagas disease in organ transplant recipients in the United States: recommendations from the Chagas in Transplant Working Group. Am J Transplant 11:672–680.
- Coura, J. R., P. Albajar Viñas, L. M. Brum-Soares, A. Silvestre de Sousa and S. S. Xavier. 2013. Morbidity of Chagas heart disease in the microregion of Rio Negro, Amazonian Brazil: a case-control study. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 108(8):1009-1013.

- Coura J. R. 2015. The main sceneries of Chagas disease transmission. The vectors, blood and oral transmissions—a comprehensive review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*.110: 277–282
- Crema E., L. B. Ribeiro, S. J. Adad, R. M. Ectchebehere, A. Martins Junior and A. A. Silva. 2007. Gallbladder neuron count in cholelithiasis patients with and without Chagas disease. *Rev Soc Bras Med Trop*. 40:15-7.
- Cruz-Reyes, A. and J. M. Pickering-López. 2006. Chagas disease in Mexico: an analysis of geographical distribution during the past 76 years-A review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 101:345-354.
- Curtis-Robles R., K. F. Snowden, B. Domínguez, L. Dinges, S. Rodgers, G. Mays, S. and A. Hamer. 2017. Epidemiology and molecular typing of *Trypanosoma cruzi* in naturally-infected hound dogs and associated triatomine vectors in Texas, USA. *PLOS Negl. Trop. Dis*. 11(1):1-18.
- Curtis-Robles R., S. A. Hamer, S. Lane, M. Z. Levy, and G. L. Hamer. 2018. Bionomics and spatial distribution of triatomine vectors of *Trypanosoma cruzi* in Texas and other southern states, USA. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 98:113–121.
- Diniz L. F., I. S. Caldas, P. M. M. Guedes, G. Crepalde, M. Lana, C. M. Carneiro, A. Talvani, J. A. Urbina and M. T. Bahia. 2010. Effects of ravuconazole treatment on parasite load and immune response in dogs experimentally

infected with *Trypanosoma cruzi*. *Antimicrob Agents Chemother*. 54:2979–2986.

Del-Rei R. P., L. M. Leony, P. A. F. Celedon, N. I. T. Zanchin, M. G. D. Reis and Y. M. Gomes. 2019. Detection of anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies by chimeric antigens in chronic Chagas disease-individuals from endemic South American countries. *PLoS One*. 14(4)

Desquesnes, M., M. Gonzatti, A. Sazmand, S. Thévenon, G. Bossard, A. Boulangé, G. Gimonneau, P. Truc, S. Herder, S. Ravel, D. Sereno, V. Jamonneau, S. Jittapalapong, P. Jacquet, P. Solano and D. Berthier. 2022. A review on the diagnosis of animal trypanosomoses. *Parasites & Vectors*. 15(64).

Desquesnes M. 2004. Livestock trypanosomoses and their vectors in Latin America. Paris: World Organization for Animal Health (OIE).

Dumonteil, E., H. Desale, W. Tu, B. Duhon, W. Wolfson, G. Balsamo and C. Herrera. 2021. Shelter cats host infections with multiple *Trypanosoma cruzi* discrete typing units in southern Louisiana. *Veterinary Research*. 52(53)

Echeverria, L. E., and C. A. Morillo. 2019. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). *Infectious Disease Clinics of North America*. 33:119–134.

Estrada-Franco J. G., V. Bhatia, H. Diaz-Albiter, L. Ochoa-Garcia, A. Barbabosa and J. C. Vazquez-Chagoyan. 2006. Human *Trypanosoma cruzi* infection and seropositivity in dogs. *Mexico Emerg Infect Dis*. 12:624–30.

- Egüez, K. E., J. Alonso-Padilla, C. Terán, Z. Chipana, W. García, F. Torrico, J. Gascon, D.-F. Lozano-Beltran, D.-F. and M. J.-Pinazo. 2017. Rapid diagnostic tests duo as alternative to conventional serological assays for conclusive Chagas disease diagnosis. ¹ *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(4).²
- Filigheddu, M. T., M. Górgolas & J. M. Ramos. 2017. Enfermedad de Chagas de transmisión oral. *Medicina Clínica*. 148(3):125-131.
- Galaviz-Silva L., R. Mercado-Hernández, J. J. Zárate-Ramos and Z. J. Molina-Garza. 2017. Prevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in dogs and small mammals in Nuevo León, México. *Revista Argentina de Microbiología*. 49(3):216-223.
- Galvão C., 2014. Vetores da doença de Chagas no Brasil. Sociedade Brasileira de Zoologia, pag. 289.
- Grisard E. C., C. J. Carvalho-Pinto, A. F. Scholz, H. K. Toma, B. R. Schlemper Jr. and M. Steindel. 2000. *Trypanosoma cruzi* Infection in *Didelphis marsupialis* in Santa Catarina and Arvoredo. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 95 (6).
- Goldsmith, L. A., S. I. Katz, B. A. Gilchrest, A. S Paller, D. J. Leffell and K. Wolff. 2012. Chagas' disease. En K. Wolff (Ed.), *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine* (8.a ed.). McGraw-Hill.

- Guedes PM, Veloso VM, Tafuri WL, Galvão LM, Carneiro CM, de Lana M, Chiari E, Ataíde Soares K, Bahia MT. 2002. The dog as model for chemotherapy of the Chagas disease. *Acta Trop.* 84:9–17.
- Guhl F., A. Auderheide, and J. D. Ramírez. 2014. From ancient to contemporary molecular eco-epidemiology of Chagas disease in the Americas. *Int. J. Parasitol.* 44(9):605–612.
- Gürtler R.E. and M. V. Cardinal. 2015. Reservoir host competence and the role of domestic and commensal hosts in the transmission of *Trypanosoma cruzi*. *Acta Trop.* 151:32–50. acute and chronic phases. *PLoS Negl Trop Dis.* 10(9).
- Hernández C., Z. Cucunbá, C. Flórez, M. Oliveira, C. A. Valencia-Hernandez and P. Zambrano. 20216. Molecular diagnosis of Chagas disease in Colombia parasitic loads and discrete typing units in patients from acute and chronic phases. *PLoS Negl Trop Dis.* 10(9).
- Hernandez S, C. J. Forsyth, C. A. Flores and S. K. Meymandi. 2019. Prevalence of Chagas Disease Among Family Members of Previously Diagnosed Patients in Los Angeles, California. *Clin Infect Dis.* 13;69(7):1226-1228.
- Herrera H. M., C. V. Lisboa, A. P. Pinho, N. Olifiers, R. C. Bianchi, F. L. Rocha, G. M. Mourão and A. M. Jansen. 2008. The coati (*Nasua nasua*, Carnivora, Procyonidae) as a reservoir host for the main lineages of *Trypanosoma*

cruzi in the Pantanal region, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 102(11):1133–1139.

Herrera HM, F. L. Rocha, C. V. Lisboa, V. Rademaker, G. M. Mourão and A. M. Jansen. 2011. Food web connections and the transmission cycles of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma evansi* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) in the Pantanal Region, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 105(7):380–387.

Hodo C. L. and S. A. Hamer. 2017. Toward an Ecological Framework for Assessing Reservoirs of Vector-Borne Pathogens: Wildlife Reservoirs of *Trypanosoma cruzi* across the Southern United States. *ILAR Journal.* 58(3):379–392.

Huprikar S., E. Bosserman, G. Patel, A. Moore, S. Pinney, A. Anyanwu, D. Neofytos, D. Ketterer, R. Striker, F. Silveira, Y. Qvarnstrom, F. Steurer, B. Herwaldt and S. Montgomery. 2013. Donor-derived *Trypanosoma cruzi* infection in solid organ recipients in the United States, 2001–2011. *Am J Transplant.* 13:2418–2425.

Irish, A., J. D. Whitman, E. H. Clark, R. Marcus and C. Bern. 2022. Updated estimates and mapping for prevalence of chagas disease among adults, United States. *Emerging infectious Diseases.* 28(7):1313-1320.

- Jansen A. M. and A. L. R. Roque. 2010. Domestic and Wild Mammalian Reservoirs. In: American Trypanosomiasis. J. Telleria and M. Tibayrenc, ed. Elsevier. P. 249-276.
- Jansen A.M., S. C. D. C. Xavier and A. L. R. Roque, A.L.R., 2018. Trypanosoma cruzi transmission in the wild and its most important reservoir hosts in Brazil. Parasit. Vectors 11(502):1–25.
- Jansen A. M., S. C. D. C. Xavier and A. L. R. Roque. 2020. Landmarks of the Knowledge and Trypanosoma cruzi Biology in the Wild Environment. Front. Cell. Infec. Microbiol. 10:1-15.
- Jaramillo A. C. J. y Martínez Maya, J. J. 2010. *Epidemiología veterinaria*. Editorial El Manual Moderno.
- Jiménez-Coello M., E. Guzmán-Marín, A. Ortega-Pacheco and K. Acosta-Viana. 2010. Serological Survey of American Trypanosomiasis in Dogs and Their Owners From an Urban Area of Mérida Yucatán, México. Transboundary and Emerging Diseases 57:33–36.
- Kendricks, A. L., S. B. Gray, G. K. Wilkerson, C. M. Sands, C. R. Abee, B. J. Bernacky, P. J. Hotez, M. E. Bottazzi, S. L. Craig and K. M. Jones. 2020. Reproductive outcomes in rhesus macaques (*Macaca mulatta*) with naturally-acquired Trypanosoma cruzi infection. Laboratory Animal Science. 70(2):152–159.

- Kjos S. A., P. L. Marcet, M. J. Yabsley, U. Kitron, K. F. Snowden, K. S. Logan, J. C. Barnes and E. M. Dotson. 2013. Identification of Bloodmeal Sources and *Trypanosoma cruzi* Infection in Triatomine Bugs (Hemiptera: Reduviidae) From Residential Settings in Texas. the United States, *Journal of Medical Entomology*, 50(5):1126–1139
- Klotz S. A., J. O. Schmidt, P. L. Dorn, M. S. C. Ivanyi, K. R. Sullivan and L. Stevens. 2014. Free-roaming kissing bugs, vectors of Chagas disease, feed often on humans in the Southwest. *Am. J. Med.* 127(5):421–426.
- Lantorno G., G. Bassotti, Z. Kogan, C. M. Lumi, A. M. Cabanne and S. Fisogni. 2007 The enteric nervous system in chagasic and idiopathic megacolon. *Am J Surg Pathol.* 31:460-8.
- Lages-Silva E., L. E. Ramírez, A. L. Pedrosa, E. Crema, L. M. da Cunha Galvao and S. D. Junho Pena. 2006. Variability of kinetoplast DNA gene signatures of *Trypanosoma cruzi* II strains from patients with different clinical forms of Chagas' disease in Brazil. *J Clin Microbiol.* 44:2167–71.
- Lee B. Y., Bacon KM, Bottazzi ME, Hotez PJ. Global economic burden of Chagas disease: a computational simulation model. *Lancet Infect Dis.* 13: 342–348.
- Letnic M, E. G. Ritchie and C. R. Dickman. 2012. Top predators as biodiversity regulators: the dingo *Canis lupus dingo* as a case study. *Biological Reviews* 87(2): 390– 413.

- Lisboa C.V., R. V. Monteiro, A. F. Martins, S. C. Xavier , V. D. S. Lima and A. M. Jansen. 2015. Infection with *Trypanosoma cruzi* TcII and TcI in free-ranging population of lion tamarins (*Leontopithecus spp.*): an 11-year follow-up. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 110(3):394–402.
- . Lozano D., L. Rojas, S. Méndez, A. Casellas, S. Sanz and L. Ortiz. 2019. Use of rapid diagnostic tests (RDTs) for conclusive diagnosis of chronic Chagas disease - field implementation in the Bolivian Chaco region. *PLoS Negl Trop Dis*. 13(12).
- Luquetti A. O., C. Ponce, E. Ponce, J. Esfandiari, A. Schijman and S. Revollo. 2003. Chagas disease diagnosis a multicentric evaluation of Chagas stat-Pak, a rapid immunochromatographic assay with recombinant proteins of *Trypanosoma cruzi*. *J Diagn Microbiol Infect Dis*. 6:265–271.
- Luquetti A. O., A. Rassi, In Brener, A. Z. Andrade and M. Barral-Neto M. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 2000, Coogan.
- Luquetti, A. O., and G. A. Schmunis. 2017. Diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection. In *American Trypanosomiasis Chagas Disease* (Chapter 29). Elsevier.
- Marcili A., L. Lima, M. Jr. Cavazzana, A. C. V. Junqueira, H. H. Veludo, F. Maia Da Silva, M. Campaner, F. Paiva, V. L. B. NUNES and M. M. G. Teixeira. 2009. A new genotype of *Trypanosoma cruzi* associated with bats evidenced by phylogenetic analyses using SSU rDNA, cytochrome b and

Histone H2B genes and genotyping based on ITS1 rDNA. *Parasitology*. 36(6):641–655.

Marcon G. E., P. D. Andrade, D. M. de Albuquerque, J. S. Wanderley, E. A. and de Almeida. 2002. Use of a nested polymerase chain reaction (N-PCR) to detect *Trypanosoma cruzi* in blood samples from chronic chagasic patients and patients with doubtful serologies. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;43:39–43.

Martínez I., A. Martínez-Ibarra, M. Arce-Fonseca, O. Rodríguez-Morales, D. Pérez-Morales and P. A. Reyes López. 2014. Seroprevalence and major antigens recognized by sera from *Trypanosoma cruzi*–infected dogs from Jalisco. *México Rev Argent Microbiol*. 46:85–90.

Martínez-Hernández F., E. Rendon-Franco, L. M. Gama-Campillo, C. Villanueva-García, M. Romero-Valdovinos, P. Maravilla, R. Alexandre-Aguilar, N. Rivas, A. Córdoba-Aguilar, C. I. Muñoz-García and G. Villalobos. 2014. Follow up of natural infection with *Trypanosoma cruzi* in two mammals species, *Nasua narica* and *Procyon lotor* (Carnivora: Procyonidae): evidence of infection control?. *Parasites Vectors*. 7(405).

Martínez-Ibarra J. A, R. Alexandre-Aguilar, E. Paredes-González, M. A. Martínez-Silva and M. Solorio-Cibrián. 2013. Biología de tres especies de *Triatominae* norteamericanos (Hemiptera: Reduviidae: *Triatominae*) alimentados con conejos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 102:925–30

- McClean, M. C. W., T. Bhattacharyya, P. Mertens, N. Murphy, Q. Gillean, Y. Gustin, N. Zeppen, S. C. C. Xavier, A. M. Jansen and M. A. Miles. 2020. A lineage-specific rapid diagnostic test (Chagas Sero K-SeT) identifies Brazilian *Trypanosoma cruzi* II/V/VI reservoir hosts among diverse mammalian orders. *PLoS ONE*, 15(1), e0227828.
- Mehrkens L. R., L. A. Shender, M. J. Yabsley, B. C. Shock, F. A. Chinchilla, J. Suarez, and K. V. K. Gilardi. 2013. White-Nosed Coatis (*Nasua narica*) Are a Potential Reservoir of *Trypanosoma cruzi* and Other Potentially Zoonotic Pathogens in Monteverde, Costa Rica. *Journal of Wildlife Diseases* 49(4): 1014-1018.
- Mendes R.S., V. L. Santana, A.M. Jansen, C.C. Xavier, I. F. Vidal, T. E. F. Rotondano e A. P. Souza. 2013. Aspectos epidemiológicos da Doença de Chagas canina no semiárido paraibano. *Pesq. Vet. Bras.* 33(12):1459–1465.
- Mendicino D., C. Colussi and E. Moretti. Simultaneous use of two rapid diagnostic tests for the diagnosis of Chagas disease. *Trop Doct.* 2019;49(1):23–26.
- Meneghelli U. G. Chagasic enteropathy. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2004;37:252-60.
- Meyers A. C, S. A. Hamer, D. Matthews, S. G. Gordon and A.B. Saunders. 2019. Risk factors and select cardiac characteristics in dogs naturally infected

with *Trypanosoma cruzi* presenting to a teaching hospital in Texas. J Vet Intern Med. 2019; 33(4):1695–706.

Meyers A. C., M. Meinders and S.A. Hamer. 2017. Widespread *Trypanosoma cruzi* infection in government working dogs along the Texas-Mexico border: discordant serology, parasite genotyping and associated vectors. PLOS Negl. Trop. Dis. 11(8):1-19.

Ministério da Saúde. 2005. Secretaria de Vigilância em Saúde. Consenso Brasileiro em Doença de Chagas. Rev Soc Bras Med Trop. 38(3):1-29

Montenegro V. M., M. Jimenez, J. C. Dias and R. Zeledon. 2022. Chagas disease in dogs from endemic areas of Costa Rica. Mem Inst Oswaldo Cruz. 97:491–4.

Moo-Millan J.I., A. Arnal, S. Pérez-Carrillo, A. Hernandez-Andrade, M. J. Ramírez-Sierra, M. Rosado-Vallado, E. Dumonteil and E. Waleckx. 2019. Disentangling *Trypanosoma cruzi* transmission cycle dynamics through the identification of blood meal sources of natural populations of *Triatoma dimidiata* in Yucatán, Mexico. Parasites Vectors. 12(572):1-11.

Murillo-Godínez, G. 2018. Enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). Med. interna Méx. 34(6):959-970.

Murillo-Solano C., J. López-Domínguez, R. Góngora, A. Rojas-Guloso, J. Usme-Ciro, E. Perdomo-Balaguera, C. Herrera, G. Parra-Henao and E. Dumonteil. 2021. Diversity and interactions among triatomine bugs, their

blood feeding sources, gut microbiota and *Trypanosoma cruzi* in the Sierra Nevada de Santa Marta in Colombia. Sci. Rep.

Murphy, N., N. P. Macchiaverna, M. V. Cardinal, T. Bhattacharyya, P. Mertens, N. Zeippen, Y. Gustin, Q. Gillemann, R. E. Gürtler and M.A Miles. 2019. Lineage-specific rapid diagnostic tests can resolve *Trypanosoma cruzi* TcII/V/VI ecological and epidemiological associations in the Argentine Chaco. *Parasites & Vectors*, 12, 424.

Nieto P. D., R. Boughton, P. L. Dorn, F. Steurer, S. Raychaudhuri, J. Esfandiari. 2009. Comparison of two immunochromatographic assays and the indirect immunofluorescence antibody test for diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection in dogs in south central Louisiana. *Vet Parasitol.* 165(3–4):241–7.

Noireau F., P. Diosque and A.M. Jansen. 2009. *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. *Vet. Res.* 40(2):1-23.

Norma Oficial Mexicana NOM 253-SSA1-2012, para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos. México: Diario Oficial de la Federación 2012 Oct 26. Disponible en: [http //www. dof gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5275587&fecha=26/10/2012](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5275587&fecha=26/10/2012)

Novelo-Garza B. A., G. Benítez-Arvizu, A. Peña-Benítez and J. M. R. A. Galván-Cervantes. 2010. Detection of *Trypanosoma cruzi* in blood donors. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.*, 48(2):139–44.

Nowak R.N. 2005. Walker's Carnivores of the World. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD.

Organización Internacional para las Migraciones. (2024). Estadísticas Migratorias, Boletín Migratorio Anual. Disponible en: [Boletín Migratorio Anual 2023 | OIM México](#). Fecha de acceso: 05 de noviembre 2024.

Oliverira E. C., M. M. Stefani, A. O. Luquetti, E. F. Vêncio, M. A. Moreira y C. Souza. 1993 Trypanosoma cruzi and experimental Chagas' disease characterization of a stock isolated from a patient with associated digestive and cardiac form. Rev Soc Bras Med Trop. 26(1):25–33

OMS, 2024. World Health Organization. Chagas disease (American trypanosomiasis). Disponible en: <https://www.who.int/health-topics/chagas-disease>.

Organización Internacional para las Migraciones. Boletín Anual 2023. Estadísticas migratorias para México.

OPS Síntesis de evidencia: Guía para el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad de Chagas. Rev Panam Salud Publica. 2020;44

Pallarés B., M. E. 2014. *Estudio de la situación seroepidemiológica de infección por Trypanosoma cruzi en población de jornaleros migrantes en zona rural de Ensenada* (Tesis de maestría). Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Odontología.

- Parada-López J., S. F. Hernández-Betancourt, H. A. Ruíz-Piña, F. J. Escobedo-Ortegon, S. Medina-Peralta, and J. A. Panti-May. 2013. "*Trypanosoma cruzi* infection in *Didelphis virginiana* in relation to population parameters and variables associated with presence in rural community dwellings in Yucatan, Mexico," *Ecohealth*, 10(1):31–35.
- Pereira K. S., F. L. Schmidt, R. L. Barbosa, A. M. A. Guaraldo, R. M. B. Franco, V. L. Dias and L. A. C. Passos. 2010. Chapter 3 - Transmission of Chagas Disease (American Trypanosomiasis) by Food. In: *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol 59, Steve LT (editor), New York: Academic Press, pp 63–85
- Picado A., I. Cruz, M. Redard-Jacot, A. G. Schijman, F. Torrico F and S. Sosa-Estani. 2018. The burden of congenital Chagas disease and implementation of molecular diagnostic tools in Latin America. *BMJ Glob. Heal.* 3(e001069).
- Pinto J. C., A. Novaes Jr., E. Dias, A. Luquetti, M. A. Shikanai-Yasuda, J. Rodrigues, R. Morais, J. R. Da Cunha, E. A. De Almeida, W. De Oliveira, A. C. Silveira. J. Marcondes, F. Scalabrini, A. Walter, A. Rassi, A. A. Fragata, A. Silvestre, D. Correia, A. M. Jansen. G. M. Queiroz, C. F. De Paoli de Carvalho, A. Y. Das Neves, A. Rassi Jr., D. E. Campos, F. Abad-Franch, S. E. Santos, E. Chiari, A. M. Hasslocher-Moreno, E. F. Moreira, D. S. De Oliveira, E. Lages, J. A. Marin-Neto, L. M. Da Cunha, S. Salles, S. A. Da Silva Valente, N. Barbosa, A. Viana, R. Albuquerque, V. M. Da

- Costa, S. Monzani, S. Mamede, V. Da Costa, M. M. Lima e R. Vieira. 2016. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, 2016. Epidemiol. Serv. Saude. 25(núm. esp.): 7-86.
- Pinto, J. C. D. y Amato V. 2011. Prevenção referente às modalidades alternativas de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no Brasil Rev Soc Bras Med Trop. 44(2):68-72. B.
- Portela-Lindoso A. A. and Shikanai-Yasuda MA. 2003. Chronic Chagas' disease: from xenodiagnosis and hemoculture to polymerase chain reaction. Rev Saude Publica. 37:107–15.
- Ramírez J. C., C. I. Cura, O. C. Moreira, E. Lages-Silva, N. Juiz, E. Velázquez and Analytical. 2015. Validation of quantitative real-time PCR methods for quantification of *Trypanosoma cruzi* DNA in blood samples from Chagas disease patients. *J Mol Diagn.* 17(5):605–615.
- Ramírez J. D., Hernández, C. Montilla, M. Zambrano, P. Flórez, A. C. Parra and E. Z. M. Cucunubá. 2014. First report of human *Trypanosoma cruzi* infection attributed to TcBat genotype. Zoonoses Public. Health. 61(7):477-479.
- Ramírez J.D., B. Turriago, G. Tapia-Calle and F. Guhl. 2013. Understanding the role of dogs (*Canis lupus familiaris*) in the transmission dynamics of *Trypanosoma cruzi* genotypes in Colombia. Vet. Parasitol. 196(1-2):216–219.

- Ramsey J. M., A. T. Peterson, O. Carmona-Castro, D. A. Moo-Llanes, Y. Nakazawa, M. Butrick, E. Tun-Ku, K. De La Cruz-Félix and C. N. Ibarra-Cerdeña. 2015. Atlas of Mexican Triatominae (Reduviidae: Hemiptera) and vector transmission of Chagas disease. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 110(3):339-352
- Rassi A. Jr., A. Rassi and J. A. Marin-Neto. 2010. Chagas disease. *Lancet*. 375(9723):1388–1402.
- Rassi A. Jr., A. Rassi and J. M. De Rezende. 2012. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). *Clin. Infect. Dis*. 26(2):275–291.
- Rassi, A., de Rezende, J. M., Luquetti, A. O., & Rassi Jr, A. 2017. Clinical phases and forms of Chagas disease. En *American Trypanosomiasis Chagas Disease*. Pag. 653-686.
- Riarte A, Luna C, Sabatiello R, Sinagra A, Schiavelli R, De Rissio A, Maiolo E, García MM, Jacob N, Pattin M, Lauricella M, Segura EL, Vázquez M. 1999. Chagas' disease in patients with kidney transplants: 7 years of experience 1989–1996. *Clin Infect Dis* **29**:561–567.
- Rocha FL, A. L. R Roque, J. S. De Lima, C. C. Cheida, F.G. Lemos, F. C. De Azevedo, R. C. Arrais, D. Bilac, H. M. Herrera, G. Moura and A. M. Jansen. 2013. *Trypanosoma cruzi* Infection in Neotropical Wild Carnivores

(Mammalia: Carnivora): At the Top of the *T. cruzi* Transmission Chain. PLOS ONE 8(7).

Rodrigues ES, Santos GQ, Silva MVd, Barros JHS, Bernardo AR, Diniz RL, Rubim NM, Roque ALR, Jansen AM, Silva ED and Xavier SCC. 2022. Chagas Immunochromatographic Rapid Test in the Serological Diagnosis of *Trypanosoma cruzi* Infection in Wild and Domestic Canids. Front. Cell. Infect. Microbiol. 12(835383).

Rodríguez-Morales, O., Ballinas-Verdugo, M. A., Alexandre-Aguilar, R., Reyes, P. A., & Arce-Fonseca, M. 2011. *Trypanosoma cruzi* Connatal Transmission in Dogs with Chagas Disease: Experimental Case Report. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 11(10), 1317-1322.

Rohwedder R. W. 1966. Chagas' infection in blood donors and the possibility of its transmission by blood transfusion. 1969. Bol Chil Parasitol. 24(1):88-93.

Roque A. L. R., S. C. C. Xavier, M. G. Da Rocha, A. C. Duarte, P. S. D'Andrea and A. M. Jansen. 2008. *Trypanosoma cruzi* transmission cycle among wild and domestic mammals in three areas of orally transmitted Chagas disease outbreaks. Am. J. Trop. Med. Hyg. 79(5):742–749. Rohwedder R. W. Chagas' infection in blood donors and the possibility of its transmission by blood transfusion. 1969. Bol Chil Parasitol. 24(1):88-93.

Roque A. L. R., S. C. C. Xavier, M. Gerhardt, M. F.O. Silva, V. S. Lima, P. S. D'Andrea and A. M. Jansen. 2013. *Trypanosoma cruzi* among wild and

domestic mammals in different areas of the Abaetetuba municipality (Pará State, Brazil), an endemic Chagas disease transmission area. *Vet. Parasitol.* 193(1–3):71-77.

Rossi R. V. and G. V. Bianconi. 2011. Ordem Didelphimorphia. In: *Mamíferos do Brasil*. 2nd. N. R. Reis, A. L. Perecchi, W. A. Pedro and I. P. Lima. ed. Londrina: Edifurb. P. 31–69.

Rozas M, C. Botto-Mahan, X. Coronado, S. Ortiz, P. E. Cattán and A. Solari. 2007. Coexistence of *Trypanosoma cruzi* genotypes in wild and peridomestic mammals in Chile. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 77: 647–653. Shikanai-Yasuda M. A. and N. B. Carvalho. 2012. Oral transmission of Chagas disease. *Clin. Infect. Dis.* 54(6):845–852.

Rueda K., J. E. Trujillo, J. C. Carranza and G. A Vallejo. 2014. Transmisión oral de *Trypanosoma cruzi*: una nueva situación Epidemiológica de la enfermedad de Chagas en Colombia y otros países Suramericanos. *Biomédica* 34:631–641.

Salazar-Schettino P.M., M. Cabrera-Bravo, C. Vázquez-Antona, E. Zenteno, M.C. De Alba-Alvarado, E. Torres-Gutiérrez, Y. Guevara-Gómez, M.G. Perera-Salazar, G. García de la Torre and M. I. Bucio-Torres. 2016a. Chagas Disease in Mexico: Report of 14 Cases of Chagasic Cardiomyopathy in Children. *Tohoku J. Exp. Med.* 240:243-249.

Salazar-Schettino, P. M., G. E. Rojas-Wastavino, M. Cabrera Bravo, M. I. Bucio-Torres, J. A. Martínez-Ibarra, M. C. R. R. Monroy-Escobar, M.C.R.R., Antonieta, Y. G. Guevar, B. M. O. Vences, A. L. H. and G. E. Torres Gutiérrez. 2010. A revision of thirteen species of Triamoniae (Hemiptera:Reduviidae) vectors of Chagas disease in Mexico. Journal of the Selva Andina Research Society. 1, 57-80.

Salazar P. M, M. I. Bucio, J. Rojo, Y. V. Manuel, M. A. Revuelta, S. Pastén, A. Chávez, C. R. García, I. D. Becker, M. Cabrera, C. M. Gómez y S. A. López. 2019. Manual de Procedimientos para la Enfermedad de Chagas en México. Secretaria de Salud. Pág. 1-107.

Sánchez-Camargo CL, Albajar-Vinas P, Wilkins PP, Nieto J, Leiby DA, Paris L. 2014. Comparative evaluation of 11 commercialized rapid diagnostic tests for detecting *Trypanosoma cruzi* antibodies in serum banks in areas of endemicity and non endemicity. *J Clin Microbiol*. 52(7):2506–2512

Sánchez-Guillen, M. D. C, C. Bernabé, M. Tibayrenc, J. Zavala-Castro, J. L. Totolhua, J. Méndez-López, M. E González-Mejía, E. Torres- Rasgado, A. López-Colombo and R. Pérez-Fuentes. 2006. *T. cruzi* strains isolated from human, vector, and animal reservoir in the same endemic region in Mexico and typed as *T. cruzi* I, discrete typing unit 1 exhibit considerable biological diversity. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101:585–590.

- Santos, A. H., I. G. Silva Y A. Rassi. 1955. Estudo comparativo entre o xenodiagnóstico natural e o artificial em chagásicos crônicos. 1995. Rev Soc Bras Med Trop. 28:367–373.
- Santos-Mallet, Jr., C. S. Silva, S. A. Gomes, D. L. Oliveira, C. L. Santos, D. M. Sousa, N. L. Pinheiro, A. C. Junqueira and T. C. Gonçalves. 2008. Molecular characterization of *Trypanosoma cruzi* sylvatic isolates from Rio de Janeiro. Brazil. Parasitol Res 103:1041–1045.
- Schaub GA, Meiser CK, Balczun C. 2011. Interactions of *Trypanosoma cruzi* and triatomines. In: Mehlhorn H (ed) Progress in the fight against parasitic diseases. Springer, Heidelberg Schenone H (1998) Tratamiento etiológico en la fase crónica de la enfermedad de Chagas en niños de Chile. Rev Pat Trop 27(Suppl):33–34
- Shikanai-Yasuda M. A. and N. B. Carvalho. 2012. Oral transmission of Chagas disease. Clin. Infect. Dis. 54(6):845–852.
- Schijman, A. G. 2018. Molecular diagnosis of *Trypanosoma cruzi*. Acta Tropica, 184, 59-66.
- Schijman, A. G., J. Alonso-Padilla, S. A. Longhi and A. Picado. 2022. Parasitological, serological and molecular diagnosis of acute and chronic Chagas disease: from field to laboratory. Mem Inst Oswaldo Cruz.117:1-13.

Schijman A. G., M. Bisio, L. Orellana, M. Sued, T. Duffy and A. M. Mejia Jaramillo.

2011. International study to evaluate PCR methods for detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in blood samples from Chagas disease patients. PLoS Negl Trop Dis. 5(1).

Secretaría de salud. Manual de procedimientos para la enfermedad de Chagas en México. 2015.

Secretaria de salud. (2019). Centro Nacional de Transfusión Sanguinea.

Recuperado de: [Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea | Gobierno | gob.mx](#). Fecha de acceso: 5 noviembre 2024.

Silveira AB, Lemos EM, Adad SJ, Correa-Oliveira R, Furness JB. 2007.

Megacolon in Chagas disease: A study of inflammatory cells, enteric nerves, and glial cells. Hum Pathol. 38:1256-64.

Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. (2013-2023). Historico Boletín

Epidemiológico. Recuperado de: [Histórico Boletín Epidemiológico | Secretaría de Salud | Gobierno | gob.mx](#). Fecha de acceso: 5 de diciembre de 2024.

Sosa-Jurado F, Zumaquero-Ríos JL, Reyes PA, Cruz-García A, Guzmán-Bracho

C, Monteón VM. 2004. Factores bióticos y abióticos que determinan la seroprevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en el municipio de Palmar de Bravo, Puebla. 2004. México Salud Publica Mex. 46:39–48.

- Stevens L., P. L. Dorn, J. Hobson, N. M. De La Rua, D. E. Lucero, J. H. Klotz, J. O. Schmidt, and S. A. Klotz. 2012. Vector blood meals and Chagas disease transmission potential, United States. *Emerging Infect. Dis.* 18(4):646–650.
- Takahashi 2003. Pathophysiological significance of neuronal nitric oxide synthase in the gastrointestinal tract. *J Gastroenterol.* ;38:421-30.
- Tamay-Segovia, P., S. C. Blum-Domínguez, L. A. Núñez-Oreza, F. Martínez-Hernández, M. I. Gómez-Solano, M. G. Maldonado-Velázquez, and O. G. Retana-Guiascón. 2017. Presence of Virginia opossum (*Didelphis virginiana*) and Pic (*Triatoma dimidiata*) infected with *Trypanosoma cruzi* in urban areas: preliminary evaluation in the city of Campeche, Mexico. *Austral J Vet Sci.* 49(1):35-38
- Thomas M. E., J. J. Rasweiler and A. D'Alessandro. 2007. Experimental transmission of the parasitic flagellates *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* between triatomine bugs or mice and captive neotropical bats. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102(5) 559–565.
- Tomasini N. 2018. Introgression of the kinetoplast DNA: an unusual evolutionary journey in *Trypanosoma cruzi*. *Curr Genomics.*19:133–9.
- Troncon LE, Aprile LR, Oliveira RB, Iazigi N. 2000. Abnormally rapid gastric emptying of an isosmotic liquid meal in patients with megaduodenum. *Dig Dis Sci.* 45:2145-50.

- Torrico F, Gascon J, Ortiz L, 2018. Treatment of adult chronic indeterminate Chagas disease with benznidazole and three E1224 dosing regimens: a proof-of-concept, randomised, placebo- controlled trial. *Lancet Infect Dis* 18: 419-30.
- Torrico F, Alonso-Vega C, Suarez E, Rodriguez P, Torrico MC, Dramaix. 2004. Maternal *Trypanosoma cruzi* infection, pregnancy outcome, morbidity, and mortality of congenitally infected and non-infected newborns in Bolivia. *Am J Trop Med Hyg.* 70(2): 201-9.
- Turriago G. B. C., G. A. Vallejo, G. A. and F. Guhl. 2008. Seroprevalencia de *trypanosoma cruzi* en perros de dos áreas endémicas de Colombia. *Revista Med*, 16(1),11-18.
- Velázquez-Ramírez D. D., A. A. Pérez de León and H. Ochoa-Díaz-López. 2022. Review of American Trypanosomiasis in Southern Mexico Highlights Opportunity for Surveillance Research to Advance Control Through the One Health Approach. *Front Public Health.* 15(10).
- Umezawa ES, Souza AI, Pinedo-Cancino V, Marcondes M, Marcili A, Camargo LM. TESA-blot for the diagnosis of Chagas disease in dogs from co-endemic regions for *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma evansi* and *Leishmania chagasi*. *Acta Trop.* 111(1):15–20.
- Vera-Cruz J. M., E. Magallón-Gastelum, G. Grijalva, A. R. Rincón, C. Ramos-García C and J. Armendáriz-Borunda. Molecular diagnosis of Chagas

disease and use of an animal model to study parasite tropism. 2003. *Parasitol Res.* 89:480–6.

Virreira M., F. Torrico, C. Truyens, C. Alonso-Vega, M. Solano, Y. Carlier and M. Svoboda. 2003. Comparison of polymerase chain reaction methods for reliable and easy detection of congenital *Trypanosoma cruzi* infection. *Am J Trop Med Hyg.* 68:574–582.

Xavier S. C., A. L. Roque, V. D. S. Lima, K. J. Monteiro, J. C. Otaviano, L. F. Ferreira da Silva and A. M. Jansen. 2012. Lower richness of small wild mammal species and Chagas disease risk. *PLOS Negl. Trop. Dis.* 6(5):5-11.

Xavier S.C., A. L. Roque, D. Bilac, V. A. De Araújo, S. F. Da Costa Neto, E. S. Lorosa, L. F. Da Silva and A. M. Jansen. 2014. Distantiae transmission of *Trypanosoma cruzi*: a new epidemiological feature of acute Chagas disease in Brazil. *PLOS Negl. Trop. Dis.* 8(5):1-9

Waleckx E., J. Suarez, B. Richards and P. L. Dorn. 2014. *Triatoma sanguisuga* blood meals and potential for Chagas Disease, Louisiana, USA. *Emerging Infect. Dis.* 20(12):2141–2143.

Waleckx, E., Ríos, J., Amblard-Rambert, A., Medina, G., López, G., Haro, P. Trapping triatomine Bugs using mice-baited traps along the peninsula de Baja California, México. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2023: 1-4.

WHO WHO Technical Report Series N° 905. 2012. Control of Chagas disease.

Second report of the WHO Expert Committee. *World Health Organization*.

Wozencraft W. C. 2005. Orden Carnivora. In: *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*. D.E. Wilson and D.M. Reeder. The Johns Hopkins University Press, Baltimore. P. 279-348.

Yabsley, M. J., Brown, E. L., & Roellig, D. M. 2009. Evaluation of the Chagas Stat-Paktm assay for detection of *Trypanosoma cruzi* antibodies in wildlife reservoirs. *Journal of Parasitology*, 95(3), 775–777.

Zamora-Ledesma S., Hernández-Camacho N., Sánchez-Moreno M., Ruiz-Piña H., Villagrán-Herrera M.E., Marín-Sánchez C., Carrillo-Angeles I.G. y Jones R.W. 2020. Seropositivity for *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania mexicana* in dogs from a metropolitan region of Central Mexico. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports* 22(100459).

Zecca, I. B., Hodo, C. L., Slack, S., Auckland, L., & Hamer, S. A. 2020. *Trypanosoma cruzi* infections and associated pathology in urban-dwelling Virginia opossums (*Didelphis virginiana*). *IJP: Parasites and Wildlife*.

Zingales B., S. G. Andrade, M. R. Briones, D. A. Campbell, E. Chiari, O. Fernandes, F. Guhl, E. Lages-Silva, A. M. Macedo, C. R. Machado, M.A. Miles, A. J. Romanha, N. R. Sturm, M. Tibayrenc and A. G. Schijman. 2009. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature:

second revision meeting recommends TcI to TcVI. Mem. Inst. Oswaldo
104(7):1051-1054.

Zingales B., A. M. Miles, D. A. Campbell, M. Tibayrenc, A. M. Macedo, M. M. G.
Teixeira, A. G. Schijman, M. S. Llewellyn, E. Lages-Silva, C. R. Machado,
S. G. Andrade and N. R. Sturm. 2012. The revised *Trypanosoma cruzi*
subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and
research applications. 12(2):240-253.

Zuna H. Estudio de la importancia de la transmision de la enfermedad de Chagas
por via transfusional. Experiencia de Santa Cruz, 1982-1983. Proc.
Coloquio Internacional Enfermedad de Chagas. Bolivia: Santa Cruz de la
Sierra; 1983.

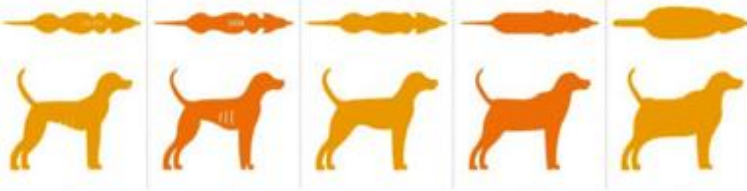
ANEXOS

Anexo 1. Formato de toma de muestras de sangre de perros capturados del Centro Municipal de Control Animal de Mexicali

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS VETERINARIAS
"Estudio exploratorio de la enfermedad de Chagas en la península de Baja California"
Responsable Dra. Paulina Haro, Tel.6861925658 correo: paulina.haro@uabc.edu.mx
Muestras de sangre de perros capturados del Centro Municipal de Control Animal de Mexicali, 2023.

#	ID TUBO	Fecha	Tubo morado	Tubo rojo	Municipio	Colonia	Mes	Especie	Raza/Cruza	Edad <1 o >1 año	Condición corporal	Ectoparásitos (pulgas, garrapatas o ninguno)
1	CM1											
2	CM2											
3	CM3											
4	CM4											
5	CM5											
6	CM6											
7	CM7											
8	CM8											
9	CM9											
10	CM10											
11	CM11											
12	CM12											
13	CM13											
14	CM14											
15	CM15											
16	CM16											
17	CM17											
18	CM18											
19	CM19											
20	CM20											
21	CM21											
22	CM22											
23	CM23											
24	CM24											
25	CM25											

Anexo 2. Formato de toma de muestras de sangre de perros capturados del
Centro Municipal de Control Animal de Mexicali

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIESNCIAS VETERINARIAS “Estudio exploratorio de la enfermedad de Chagas en la península de Baja California” Responsable Dra. Paulina Haro, Tel.6861925658 correo: paulina.haro@uabc.edu.mx Formato de examen físico de perros capturados del Centro Municipal de Control Animal de Mexicali, 2023.		
Fecha:		
Identificación:		
Edad	☐ <1 año ☐ 1- 5 años ☐ >5 años	
Talla	☐ Chico ☐ Mediano ☐ Grande ☐ Gigante	
Estado mental	☐ Normal (alerta) ☐ Deprimido ☐ Hiperexcitable ☐ Otro _____	
Condición corporal (en escala de 1 a 5)	 ☐ 1/5 ☐ 2/5 ☐ 3/5 ☐ 4/5 ☐ 5/5	
Sistema cardiovascular		
Frecuencia cardiaca _____lpm	Pulso ☐ Fuerte ☐ Débil ☐ Correspondiente ☐ Asincrónico ☐ Lleno ☐ Vacío	Auscultación cardiaca ☐ Normal ☐ Arritmia ☐ Soplo

Temperatura			
Nódulos linfáticos			
Submandibulares	☐ Normal	☐ Aumentado	☐ No palpable
Preescapulares	☐ Normal	☐ Aumentado	☐ No palpable
Poplíteos	☐ Normal	☐ Aumentado	☐ No palpable
			Tipo:
Lado derecho	Vista ventral	Vista dorsal	Lado izquierdo

