

ARTICULOS ORIGINALES

Prevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en reservorios domésticos y silvestres en Amalfi, Antioquia.

John J Arboleda¹, MV, MS; Marta I Wolff², Biol, PhD; Diana Castillo³ Biol.; Jaime H Uribe¹ Est Zoot. ¹ Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, ² Grupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares, GIEM, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. A.A 1226. jjarbol@catios.udea.edu.co

(Recibido 20 enero, 2000; aprobado 15 marzo, 2000)

Resumen

Se realizó un muestreo mensual durante un año, en nueve veredas del Municipio de Amalfi, Antioquia en reservorios domésticos y silvestres de *Trypanosoma cruzi* (T. Cruzi), con el fin de determinar el porcentaje de infección natural por los métodos de hemocultivo, xenodiagnóstico y gota gruesa; y la presencia de anticuerpos contra el parásito mediante pruebas serológicas en cada una de las especies evaluadas. En este Municipio ya se había reportado, desde 1994, la presencia de vectores llegando a las casas, los cuales fueron encontrados infectados con T. cruzi. Para el presente trabajo se procesaron 63 muestras de perros y 33 de varias especies de animales silvestres como *Didelphis marsupialis*, *Proechymis semiespinosus*, *Phylander spp.*, entre otros. El porcentaje de animales con anticuerpos contra el parásito, medidos por la técnica de ELISA, fue de 50% y 20% para animales domésticos y silvestres respectivamente. De las pruebas parasitológicas realizadas se obtuvo solamente la muestra de un perro positiva por hemocultivo, del cual se aislaron parásitos que se determinaron por morfología y se probó la presencia de anticuerpos en el suero por las técnicas de ELISA e IFI. Se discuten los resultados y se proponen nuevos estudios.

Palabras clave: *Didelphis marsupialis*, Enfermedad de Chagas, Roedores Silvestres, Tripanosomiasis Americana.

Introducción

La enfermedad de Chagas es una entidad parasitaria que solo existe en el continente Americano. Se ha estimado que 16 – 18 millones de personas están infectadas por el *T. cruzi*, parásito que causa la enfermedad, y que 121 millones de personas (25% de la población de Latinoamérica) están en riesgo de adquirir la infección.

Existen tres estados de la enfermedad en los humanos:

Fase aguda, la cual aparece por un período corto de tiempo después de la infección; posteriormente una etapa indeterminada y finalmente la enfermedad crónica, que se presenta varios años después y afecta irre-

versiblemente algunos órganos internos como el corazón, esófago, colon y el sistema nervioso periférico (19). Para Colombia las estadísticas señalan que cerca de 1,6 millones de personas pueden estar infectadas y 3,6 millones habitan en zonas de riesgo; lo que estaría representando una pérdida anual calculada de US 150 millones para el país (20, 21, 28).

La enfermedad es endémica en algunas regiones del país y la principal forma de transmisión es por insectos vectores de la familia *Triatominae* (5). Existen otros medios de transmisión como transfusiones de sangre infectada, transplantes de órganos, vía transplacentaria y por accidentes de laboratorio durante la manipulación de estos parásitos (12). Mediante la realización de estudios entomológicos y seroepidemiológicos, Chile ha implementado progra-

mas de erradicación logrando eliminar la transmisión de la infección, convirtiéndose así, en el segundo país del cono sur en conseguir este propósito de salud pública, después de Uruguay (19).

Es esencial para la aplicación de medidas tendientes a disminuir o eliminar la incidencia de la infección en humanos y animales, conocer la dinámica de la transmisión del *T. cruzi* en sus ciclos doméstico y silvestre (15).

Estudios previos realizados en Brasil y Argentina, han reportado elevadas parasitemias en perros, e igualmente se ha detectado una alta proporción de proteínas derivadas de sangre canina en el tracto digestivo de insectos vectores, también se ha evidenciado la presencia de *T. cruzi* en las glándulas adanales de *Didelphis* spp., lo cual es una prueba del importante papel que juegan estos animales en la transmisión de este parásito (15, 16, 23).

En Colombia los estudios sobre Tripanosomiasis Americana se iniciaron en 1929 con el doctor Uribe Piedrahita (26). Posteriormente Ucros en 1960 (24), presentó nuevos registros sobre la distribución de triatomíneos en Colombia. Luego se sucedieron una serie de estudios, tendientes casi todos a la distribución espacial e infección natural de los vectores implicados, sobresaliendo el *Rhodnius prolixus* como una especie muy importante para la transmisión de la infección a los humanos debido a su alta domiciliación (7, 8, 9, 27).

En Antioquia las investigaciones se han orientado hacia el entendimiento del comportamiento y la distribución de los triatomíneos, destacándose al *Triatoma dimidiata*, *Rhodnius pallescens* y *Panstrongylus geniculatus* por su presencia cerca de los domicilios humanos (18, 30). En el municipio de Amalfi, Antioquia en 1994 Wolff et al. demostraron la presencia en los domicilios humanos de *P. geniculatus*, con una infectividad por *T. cruzi* del 37%, en ese estudio se encontraron niveles altos de anticuerpos contra este parásito en el suero de perros, lo cual evidenció la posible transmisión de la infección en su ciclo doméstico a través de esta especie animal, y animó a los investigadores a realizar estudios de mayor duración y amplia cobertura en este municipio.

El propósito de este estudio fue el de conocer los porcentajes de infección natural por *T. cruzi* en la población canina y en la de pequeños mamíferos silvestres del municipio de Amalfi, Antioquia, para tratar de

establecer la participación real de ellos como fuente de infección para los vectores.

Materiales y Métodos

Zona de estudio: El trabajo se desarrolló en 9 veredas del municipio de Amalfi (Antioquia), el cual está localizado al nordeste del departamento, a una altura de 1600 msnm en la cabecera municipal (Figura 1). Se realizaron muestreos mensuales con una duración de una semana cada vez, a partir de enero de 1998 hasta enero de 1999, tomando muestras de sangre de la población canina y de pequeños mamíferos silvestres para determinar en ellos infección natural por el agente causante de la Enfermedad de Chagas. Para la evaluación de los perros se hizo una historia clínica individual que incluía la edad, raza, sexo y su participación en actividades de cacería, vigilancia o compañía. Se les tomó una muestra de sangre para detección de anticuerpos contra *T. cruzi* y para hemocultivo, además se les hizo xenodiagnóstico con *R. prolixus* de III y IV estadio ninfal, provenientes del insectario del laboratorio de Chagas de la Universidad de Antioquia, y gota gruesa para evaluación directa al microscopio de luz.

Para la captura de los mamíferos silvestres se utilizaron 50 trampas *Tomahawk* cebadas con plátano y mantequilla de maní, ubicadas estratégicamente en el bosque, rastrojos y en los alrededores de los cultivos presentes en cada vereda. Adicionalmente para aquellos animales de difícil captura por esta técnica como los armadillos (*Dasypus* spp.), se realizaron cacerías nocturnas con la ayuda de pobladores de la zona y perros entrenados para esta labor. Después de determinar su especie empleando las claves de Emmons y Mendez (10, 17), a los animales silvestres capturados se les tomó muestra de sangre para hemocultivo, gota gruesa y obtención de suero para detección de anticuerpos contra el parásito y se les hizo xenodiagnóstico; posteriormente los animales fueron liberados en el mismo sitio de captura.

Todas las muestras fueron conservadas en refrigeración entre 4 y 8 °C en neveras portátiles y transportadas al Laboratorio de Chagas de la Universidad de Antioquia para su procesamiento.

Las técnicas utilizadas para la medición de anticuerpos (IgG), fueron la técnica de ELISA (antígeno sonificado de *T. cruzi*, de cultivo masivo en medio LIT. Cepa Gal 52 del laboratorio de Chagas, Universidad

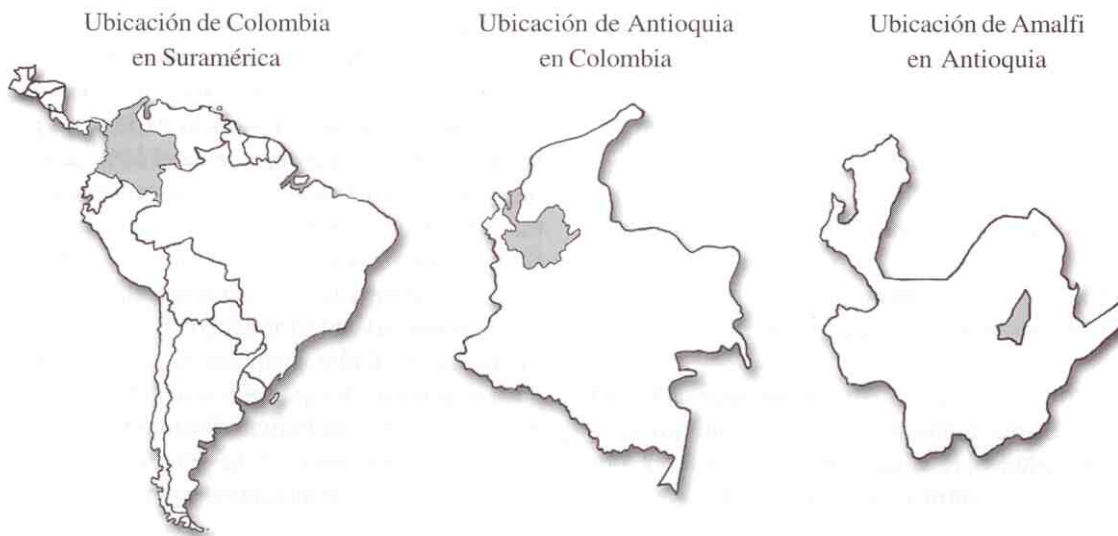


Figura 1. Zona de estudio

de Antioquia) usando como conjugado proteína A Peroxidasa SIGMA® P8651, y la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta, I.F.I., (antígeno *T. cruzi*, en crecimiento exponencial fijado en formol al 4%, cepa OV1 del laboratorio de Chagas, Universidad de Antioquia), usando como conjugado anticuerpo monoclonal Anti-perro (SIGMA® F4012 anti-dog, whole molecule, FITC conjugate, developed in rabbit) tanto para animales domésticos como para los silvestres (1, 6).

Para los hemocultivos se utilizó medio enriquecido de Tobie difásico (14), los cuales se revisaron cada 15 días durante tres meses y luego de este tiempo se descartaban como negativos. Los insectos utilizados en el xenodiagnóstico se alimentaron sobre ratón (*Mus musculus*) en tres oportunidades cada 20 días, para revisar microscópicamente sus heces en busca de parásitos.

Los parásitos aislados en el hemocultivo se pasaron a medio de cultivo LIT (Liver Infusion Tryptose) donde se repicaron cada 15 días. Para su identificación se inocularon dos ratones intraperitonealmente con 100ml de los parásitos en el medio de cultivo y posteriormente se revisaron estos a los 8 y 15 días para determinar la existencia de parasitemia; luego de comprobada esta se hizo un extendido de sangre de la cola de los ratones parasitados y se colorearon con GIEMSA para su identificación por parámetros morfológicos como el largo total, ancho máximo a nivel del núcleo, largo del flagelo libre y kinetoplasto (2).

Resultados

En total se tomaron 64 muestras de animales domésticos y 33 de silvestres, las especies muestreadas con las respectivas pruebas realizadas se observan en la tabla 1.

Tabla 1 Resultados de pruebas parasitológicas realizadas para determinación de infección por *trypanosoma cruzi* en mamíferos domésticos y silvestres

Especie	Número	Prueba Realizada		
		Hemocultivo	Gota Gruesa	Xenodiagnóstico
<i>Canis lupus</i>	63	62 Neg. 1Pos	Neg	Neg
<i>Felis catus</i>	1	Neg	Neg	Neg
<i>Didelphis marsupialis</i>	8	Neg	Neg	Neg
<i>Proechimys sp.</i>	13	Neg	Neg	Neg
<i>Philander opossum</i>	3	Neg	Neg	Neg
<i>Oryzomys sp.</i>	3	Neg	Neg	Neg
<i>Hoplomys gymnurus</i>	3	Neg	Neg	Neg
<i>Marmosa robinsoni</i>	1	Neg	Neg	Neg
<i>Dasybus novemcinctus</i>	2	Neg	Neg	Neg

En la tabla 2 se resumen los resultados de la presencia de anticuerpos por la técnica de ELISA e IFI realizada a 60 muestras de suero de caninos y 10 muestras de diferentes especies de animales silvestres, en las diferentes veredas del estudio.

Los títulos de anticuerpos de las muestras positivas de los perros evaluadas por IFI variaron desde 1:128 hasta 1:256, el título de anticuerpos en el perro que fue encontrado positivo por hemocultivo fue de 1:128.

En cuanto a la prevalencia de anticuerpos en los 33 animales silvestres capturados, tenemos que un 20% de los 10 procesados, resultaron positivos con presencia de anticuerpos contra *T. cruzi*, mediante la técnica

de ELISA, pero ninguno se midió por IFI debido a la insuficiencia de muestra para probarlos por esta técnica. La medición de anticuerpos en las 60 muestras de perro procesadas arrojó como resultado 30 positivas por la prueba de ELISA, lo cual representa el 50% de las procesadas y por la prueba de IFI sólo se procesaron las muestras que dieron resultado positivo por la prueba de ELISA; es decir que se procesaron 30 muestras por IFI y se obtuvieron 3 positivas, lo cual representa el 10% de prevalencia general de infección, pero el 27.7% para la vereda Montebello. Cabe destacar la alta prevalencia de anticuerpos en *Dasybus novemcinctus* (100%) a pesar del poco número de individuos muestreados y de los resultados negativos de las otras pruebas usadas: Xenodiagnóstico, hemocultivo y gota gruesa, ver Tabla 3.

Tabla 2 Resultados de pruebas serológicas para detección de infección por *Trypanosoma cruzi* en suero sanguíneo de las especies muestreadas en las veredas de estudio.

Vereda	ELISA						IFI		
	Procesados		Positivos		%		Procesados	Positivos	%
	D	S	D	S	D	S			
Montebello	18	5	11	1	61.1	10	11	*3	27.7
La Gardenia	17	0	12	0	70.5	0	12	0	0
Arenas Blancas	3	0	0	0	0	0	0	0	0
La María	6	0	3	0	50	0	3	0	0
La Manguita	2	1	0	1	0	100	0	0	0
María Teresa	1	1	1	0	100	0	1	0	0
Salazar	7	0	2	0	28.5	0	2	0	0
La Clara	6	0	1	0	16.6	0	1	0	0
San Miguel	0	3	0	0	0	0	0	0	0
Total	60	10	30	2	50	20	30	3	10

D: Doméstico S: Silvestre *: Títulos de anticuerpos: 1:256-1:128 Positividad Prueba: 1:32

Tabla 3 Preferencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* detectados por pruebas serológicas en las especies animales domésticas y silvestres.

Vereda	ELISA			IFI		
	Procesados	Positivos	%	Procesados	Positivos	%
<i>Canis lupus</i>	60	30	50	30	3	10
<i>Dasybus novemcinctus</i>	2	2	100	0	0	0
<i>Didelphis marsupialis</i>	4	0	0	0	0	0
<i>Philander opossum</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Oryzomys sp</i>	2	0	0	0	0	0
<i>Hoplomys gymnurus</i>	1	0	0	0	0	0
Total	70	32	35.7%	30	3	10%

Tres animales domésticos presentaron resultado positivo por las dos técnicas usadas; estas muestras pertenecían a tres perros, dos machos y una hembra adultos, de raza criolla, utilizados para las labores de vigilancia del hogar en horas nocturnas y que acompañaban a sus amos a las labores de siembra y caza. Los tres animales perte-

necían a la misma vereda, Montebello, y las casas de sus propietarios eran vecinas. Uno de los perros resultó positivo por hemocultivo, del cual se aisló *T. cruzi*, que fue identificado morfológicamente, y posteriormente confirmado por la presencia de anticuerpos en su suero, mediante la utilización de las técnicas de ELISA e IFI.

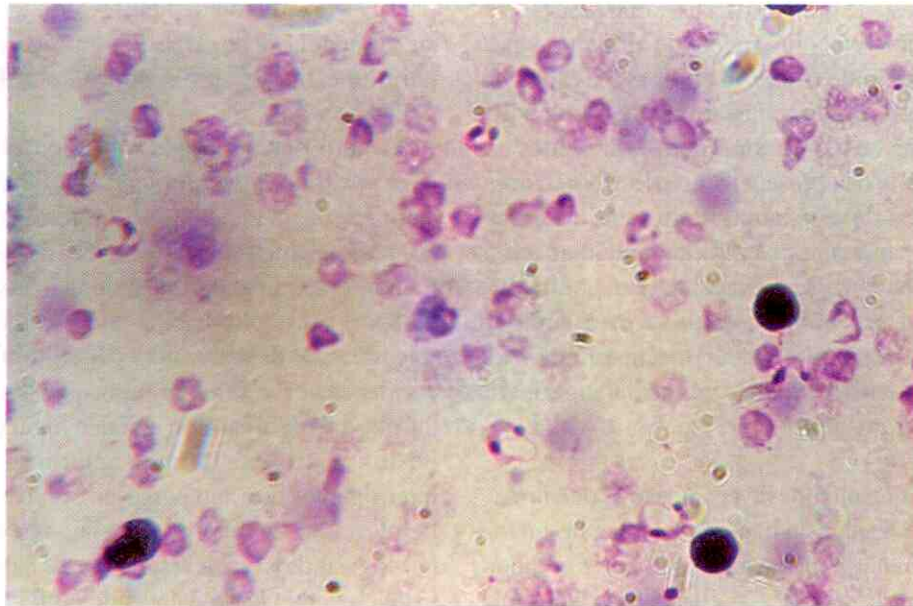


Figura 1. *Trypanosoma cruzi* coloreado con GIEMSA, nótese posición subterminal del kinetoplasto.

Discusión

Este estudio realza la importancia de continuar con la investigación y de implementar medidas de control de esta importante enfermedad en la zona de estudio. Específicamente en la vereda Montebello, donde al parecer se tienen mas elementos que contribuyen a incrementar las posibilidades de presentación de casos clínicos en humanos, pues se están conjugando todos los elementos necesarios para el evento, como es presencia de insectos en los domicilios, perros infectados y creciente destrucción del hábitat natural.

Nuestros resultados difieren de los hallazgos encontrados por Lauricella et al. en 1989 (15) en Argentina, en un estudio hecho solamente en perros, ya que el porcentaje de infección en ellos fue de 36.4% para los perros guardianes, pero de un 59.7% para perros del domicilio, en ambos estudios se resalta la importancia del perro como fuente importante de alimento y parásitos para los vectores.

No es posible inferir con los resultados de este estudio si la infectividad por *T. cruzi* en triatomíneos influye en la prevalencia de infección en perros o viceversa. Sin embargo es innegable la influencia del perro como reservorio del parásito en el ciclo doméstico de la enfermedad, evidenciado en nuestro estudio por la presencia de anticuerpos en personas jóvenes habitantes de la región que viven en estrecho contacto con estos animales, (datos no mostrados) los cuales pasan la mayor parte de su vida en las viviendas, convirtiéndose probablemente en una muy buena y permanente fuente de alimento y de infección para el insecto vector ocasional o domiciliado.

Cabe destacar la alta prevalencia de anticuerpos contra el parásito en los perros de la Vereda Montebello (61.1%) y La Gardenia (70%), pues se corrobora la alta tasa de infección encontrada en un estudio preliminar realizado en 1994 en la vereda Montebello (30). Lo anterior justifica la realización de estudios específicos en este reservorio, con seguimiento y monitoreo

más estrecho, y de esta manera tratar de esclarecer los mecanismos de infección en esta especie. En los mismos se debe evaluar la incidencia de la infección por contaminación y transmisión perinatal, dado que en otros estudios se han sugerido estas posibilidades de infección en zonas donde no se ha reportado la presencia de insectos vectores (23).

La confirmación de que los perros como reservorio doméstico, contribuyen como fuente de alimento y parásitos a la población de triatomíneos, los elevados títulos de anticuerpos encontrados en los perros positivos, como el hecho de la vecindad de los domicilios de los mismos, sumado a la presencia de insectos vectores visitando las casas de esta zona, representa un grave riesgo de infección humana y soporta la implementación de medidas tendientes a bloquear este ciclo, por medio de vacunas o el uso de quimioterapia en estos animales (13), al igual que programas de fumigación de viviendas para el control de vectores y de vigilancia epidemiológica permanente.

En cuanto a los resultados de las muestras de animales silvestres cabe resaltar la baja prevalencia de infección en ellos, lo cual está de acuerdo con los resultados encontrados por Bar y cols. (2) en un estudio sobre reservorios realizado en Argentina en 1999, en donde solo se encontraron algunos primates infectados; esto sumado a la dificultad, dado el método de muestreo utilizado, y en algunos casos el tamaño del animal, para obtener una buena cantidad de sangre de cada animal sin que éste fuera sacrificado, y poder realizar la batería de pruebas diagnósticas; sin embargo creemos que dadas las características de las técnicas utilizadas, los resultados serológicos del ELISA de estos especímenes son confiables y reflejan el estatus infeccioso de los mismos.

En nuestro estudio solo logramos capturar 8 *Didelphis marsupialis*, de los cuales ninguno resultó positivo, contrario a lo encontrado en diversos estudios realizados en otros países donde se reporta la infección natural de *Didelphis marsupialis* por *T. cruzi*, considerándolo como el principal reservorio silvestre del parásito, en cada ecosistema donde ha sido estudiado, seguido por otros marsupiales, participando así en la transmisión de la enfermedad de Chagas en sus ciclos doméstico y silvestre (4, 11, 22, 23, 25, 29). De igual forma contrasta con lo hallado por Fernández y col., en un estudio realizado en Brasil en 1991 (11), en el cual el número de *Didelphis albiventris* capturados fue de 116, de los cuales 44 (37.9%) resultaron

positivos a la infección por *T. cruzi*. Además se ha encontrado repetidamente sangre de *Didelphis* spp. en el intestino de triatomíneos colectados en ecotopos naturales de varios países, lo que confirma la asociación trófica de insecto-mamífero, mostrando a este último como fuente de infección (11, 22, 29). No obstante, la sola presencia de *Didelphis marsupialis* en la zona de estudio, representa un factor de alto riesgo para la transmisión de la infección teniendo en cuenta su tendencia a llegar a los ambientes domésticos y peridomésticos y su susceptibilidad al parásito (2).

El alto porcentaje de infección por el parásito en *Dasyurus novemcinctus*, a pesar de solamente tener dos ejemplares capturados, justificaría estudios de seguimiento por radiotelemetría, dado lo difícil de las capturas por los métodos de trapeo y caza, sumado al consumo del animal por parte de los habitantes; y basados en esta herramienta, tratar de determinar por seguimiento constante y permanente, los sitios de reposo, apareamiento y morada, que se presumen son un buen lugar para el desarrollo de los vectores, lo cual aclararía muchos de los interrogantes que aun persisten sobre el ciclo natural de la infección. La recomendación anterior está soportada por los estudios en New Orleans, EU, de Yaeger en 1988 (31), en donde la prevalencia de infección en esta especie fue del 28.75%, ya que al procesar las muestras de 80 animales capturados, encontraron que 23 de ellos resultaron positivos por la técnica de Aglutinación directa, evidenciando así un elevado porcentaje de infección natural en la especie, además el autor concluye en su estudio que el armadillo es un reservorio de esta importante zoonosis. En contraste, en un estudio posterior, realizado por Barr y col. en 1991 (3), en el sur de Louisiana, EU, en donde de 98 individuos capturados solo uno de ellos resultó positivo a la infección por *T. Cruzii*, los autores concluyen que el *Didelphis virginiana*, con 33.33% de infección natural, es un reservorio importante del parásito y que los armadillos tienen una relativa poca importancia como tales.

En términos generales, es posible inferir de los resultados de nuestro estudio, en su mayoría negativos, de las pruebas directas para observación y/o aislamiento del parásito, que la infección por *T. cruzi* en los animales domésticos y pequeños mamíferos silvestres del municipio de Amalfi es incipiente y el ciclo doméstico de la enfermedad apenas se está empezando a establecer; posiblemente desplazado desde su sitio natural en el ciclo silvestre por la destrucción del hábitat boscoso original, haciendo que los mamíferos reservorios

y los vectores infectados lleguen a los alrededores de los domicilios humanos, poniendo en grave riesgo la salud humana y evidenciando dramáticamente el inicio de la domesticación del ciclo de *T. cruzi* en la vereda Montebello del Municipio de Amalfi.

De acuerdo a los resultados de infección en los individuos de *D. marsupialis* infectados con *T. cruzi*,

creemos que se deben intensificar los estudios en esta misma zona con esta especie animal, que de alguna manera, dada su adaptación a ambientes intervenidos por el hombre, debe tener un papel protagónico en la epidemiología de la enfermedad y su monitoreo debe ser el sensor que permitan dilucidar el avance de la infección e implementar oportuna y eficazmente los programas de prevención y control.

Agradecimientos

Los autores desean expresar sus agradecimientos al personal médico y administrativo del Hospital de Amalfi, a la secretaría de salud de ese Municipio, a los promotores de salud de cada vereda visitada y muy especialmente a sus pobladores por todas las atenciones recibidas durante el estudio y su valiosa colaboración en la ejecución del proyecto. Al personal del laboratorio de Chagas de la Universidad de Antioquia por permitir la utilización de su espacio; en especial al Bacteriólogo Edison Mejía por compartir su conocimiento y prestar desinteresadamente una invaluable ayuda en el procesamiento de las muestras. A la vicerrectoría de investigaciones de la Universidad de Antioquia por su apoyo logístico. Esta investigación fue financiada por COLCIENCIAS, proyecto código 1115-04-408-96 y por el CODI de la Universidad de Antioquia.

Summary

Antibody prevalence against Trypanosoma cruzi in domestic and wild reservoirs in Amalfi, antioquia

The prevalence of Trypanosoma cruzi in domestic and wild reservoirs in nine localities of the Amalfi town, (Antioquia, Colombia), was determined. Blood samples were tested by hemoculture, xenodiagnosis and thick smears to determine the percentage of Trypanosoma infection and to evaluate the presence of antibodies against the parasite in these species. Vector activity was previously reported in households of this municipality in 1994, followed by the confirmation of presence of the parasite in the vectors. Sixty-three samples from canines and 33 of several other wild animal species like Didelphis marsupialis, Proechymis semiespinosus and Phylander spp. among others were collected. The percentage of animals with antibodies against the parasite, measured by ELISA, was 47.6% for dogs and 20% for the other wild animals. The parasite was isolated once from a canine blood sample and the identification confirmed by morphology and IFI. In this paper we discuss the results and we suggest the realization of additional studies regarding this aspects.

Key words: American Trypanosomiasis. Chaga's disease, Didelphis marsupialis, wild rodents.

Referencias

1. Astorga B. Determinación del título diagnóstico de la reacción de inmunofluorescencia indirecta para la enfermedad de Chagas en Chile. Parasitología al día. 1988; 12: 132-135.
2. Bar ME, Alvarez B, Oscherov E, Damborsky M, Jorg M. Contribución al conocimiento de los reservorios del *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) en la provincia de Corrientes, Argentina. Revista da Sociedade

- Brasileira de Medicina Tropical. Mai-jun. 1999; 32(3): 271-276.
3. Barr SC, Brown C, Dennis V, Klei T. The lesions and prevalence of *Trypanosoma cruzi* in opossums and armadillos from Southern Louisiana. *J. Parasitol.*, 1991; 77(4): 624-627.
 4. Barreto MP, Ribeiro RD. Reservatórios silvestres do *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst Adolfo Lutz.* 1979; 39:25-26.
 5. Botero D, Restrepo M. Parasitosis humanas. Corporación para investigaciones biológicas -CIB- segunda edición. 1992; 418p.
 6. Camargo ME. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of the American Trypanosomiasis. Technical modification employing preserved culture forms *T. cruzi* in a slide test. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, 8 (5). 1966; 227-235.
 7. Corredor A, Osorno E, Gaitán A, Giraldo O. Encuesta epidemiológica sobre Trypanosomiasis en el caserío de Rancho Grande, Municipio de Cúcuta, Norte de Santander. *Rev. Fac. Med. (Bogotá)*, 1965; 31: 65-73.
 8. Corredor A, Santacruz M, Páez S, Guatame L. Distribución de los Triatomíneos domiciliarios en Colombia. Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Salud. Bogotá D.E. 1990; 144p.
 9. D'Alessandro A, Barreto MP, Thomas M. Nuevos registros de Triatomíneos domiciliarios y extradomiciliarios en Colombia. *Colombia Médica.* 1985; 12(2): 75-85.
 10. Emmons LH. Neotropical rainforest mammals: a field guide. Second edition. The University of Chicago press. USA, 1997.
 11. Fernández AJ, Chiari E, Rodrigues RR, Pinto Dias J & Romanha AJ. The importance of the opossum (*Didelphis albiventris*) as a reservoir for *Trypanosoma cruzi* in Bambuí, Minas Gerais State. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Jan./Mar 1991; 86(1): 81-85.
 12. Guhl F, Garcia M, Ching R, Juliao D, Jaramillo C, Pachón D, Molina S, Barrios D. Enfermedad de chagas transfusional en Colombia. *Tribuna Médica.* 1995; 91(3): 129-136
 13. Habernkorn A & Gonnert R. Animal experimental investigation into the activity of Nifurtimox against *T. cruzi*. *Arzneim. Forsch.* 1972; 22: 1570-1582.
 14. Johnson Tobie, Von Brand T. and Mehlman B. Cultural and physiological observations on *T. rhodesiense* and *T. gambiense*. *The Journal of Parasitology.* 1950; 48-54.
 15. Lauricella MA, Sinagra AJ, Paulene I, Riarte AR & Segura EL. Natural *Trypanosoma cruzi* infection in dogs of endemic areas of the Argentine Republic. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* marzo-abril, 1989; 31(2): 63-70.
 16. Lauricella MA, Castañera MB, Gurtler RE, Segura EL. Immunodiagnosis of *Trypanosoma cruzi* (Chagas' Disease) infection in naturally infected dogs. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 1998; 93(4): 501-507.
 17. Mendez E. Los roedores de Panamá. 1993.
 18. Moreno J. Estudios epidemiológicos sobre la enfermedad de Chagas en algunas regiones de Colombia. *Tópicos de infectología.* 1995.
 19. Promed USA. Healthnet.org. January 1999.
 20. Schofield, CJ. Triatominae: Biología y control. Eurocommunica Publications. U.K. 1994; 80p.
 21. Schmunis, GA. *Trypanosoma cruzi*, the etiological agent of Chagas disease: Status in blood supply in endemic and non-endemic countries. *Transfusion.* 1991; 31: 547-557.
 22. Schweigmann NJ, Pietrokovsky S, Bottazzi V, Conti O, Wisnivesky-Colli C. Interaction between *Didelphis albiventris* and *Triatoma infestans* in relation to *Trypanosoma cruzi* transmission. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, nov./dec. 1995; 90(6): 679-682.
 23. Steindel M, Scholz AF, Toma HK, Schlemper BR. Presence of *Trypanosoma cruzi* in the anal glands of naturally infected opossum (*Didelphis marsupialis*) in the state of Santa Catarina, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 1988; 83(1): 135-137.
 24. Ucros H, Rocha H, Duque M. Distribución de Triatominae en Colombia. *Antioquia Médica.* 1971; 21(8):707-717.
 25. Urdaneta-Morales S, Nironi I. *Trypanosoma cruzi* in the anal glands of urban opossums. Isolation and experimental infections. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 1996; 91(4): 399-403.
 26. Uribe C. Infección del *Rhodnius prolixus*, stal por *Trypanosoma cruzi* y *trypanosoma rangeli*, Bogotá, Editorial Minerva, 1929.
 27. Vallejo GA. La importancia de los Triatomíneos como vectores biológicos de la Tripanosomiasis Americana. *Memorias XVI Congresos Nacional, Medellín.* 1989; 13-36.
 28. WHO. Weekly Epidemiological Record. 3/10, January, 1997.
 29. Wisnivesky-Colli C, Schweigmann NJ, Alberti A, et al. Sylvatic American Trypanosomiasis in Argentina. *Trypanosoma cruzi* infection in mammals from the Chaco forest in Santiago del Estero. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* 1992; 86: 38-41.
 30. Wolff MI, Arboleda JJ, González C, Manotas LE, Rueda AM. Estudio sobre la Tripanosomiasis Americana, Municipio de Amalfi, vereda Montebello. *Boletín Epidemiológico de Antioquia.* Año XIX julio-septiembre. 1994; 302-304.
 31. Yaeger Robert. The prevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in armadillos collected at a site near New Orleans, Louisiana. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1988; 38(2): 323-326.