



Evaluación del rol de animales de producción: cabras (*Capra aegagrus hircus*), camuros (*Ovis aries*) y vacas (*Bos taurus*) en la transmisión de *Trypanosoma cruzi* en zonas endémicas sin vectores domiciliados.

Neira Tatiana Arias Salgado

Trabajo de grado presentado para optar al título de Biólogo

Asesor

Omar Alfredo Cantillo Barraza, Doctor (PhD) en Biología

Universidad de Antioquia
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Biología
Caucasia, Antioquia, Colombia
2025

| | |
|----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Cita | (Arias Salgado, 2025) |
| Referencia | Arias Salgado, N.T. <i>Evaluación del rol de animales de producción: cabras (Capra aegagrus hircus), camuros (Ovis aries) y vacas (Bos taurus) en la transmisión de Trypanosoma cruzi en zonas endémicas sin vectores domiciliados.</i> [Trabajo de grado profesional]. Universidad de Antioquia, Caucaasia, Colombia. |
| Estilo APA 7 (2020) | |



Grupo de Investigación Biología y Control de Enfermedades Infecciosas.

Sede de Investigación Universitaria (SIU).



Repositorio Institucional: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - www.udea.edu.co

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

Agradecimientos

Agradezco primeramente a mi familia, en especial a mi madre por ser ese apoyo incondicional en este camino. A mis perros, quienes fueron mi apoyo emocional. A mis amigos Luis Fernando, Sara y Yalidys por esos años de amistad en la carrera. A las alcaldías de Soatá y Tipacoque por permitir llevar a cabo esta investigación en ambos municipios, así como a su población rural y urbana por ser miembros partícipes en este proyecto. A los profesionales Manuel Medina, William Pimiento, Johana Cobos y Pilar Salamanca por su tiempo y dedicación en las salidas de campo y por compartir sus conocimientos y experiencias conmigo. Al Programa de Control de Enfermedades Transmitidas por Vectores de la Secretaría de Salud de Boyacá y Minciencias por ser los financiadores de este proyecto. También agradezco a la universidad de Antioquia y al grupo de investigación de Biología y Control de Enfermedades Infecciosas (BCEI) por permitirme realizar mi trabajo de grado en este grupo. En especial, agradezco el apoyo, consejos y enseñanzas de mi asesor, el Dr. Omar Cantillo y a los Dres. Omar Triana y Ana Milena Murillo. También expreso mis agradecimientos a los compañeros dentro del grupo de investigación; Alejandro, María Alejandra, Laura y Hader, quienes me ayudaron en todo este tiempo con mis resultados de laboratorio.

Tabla de contenido

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Agradecimientos..... | 3 |
| Resumen | 8 |
| Abstract | 9 |
| Introducción | 10 |
| 2 Objetivos | 14 |
| 2.1 Objetivo general | 14 |
| 2.2 Objetivos específicos..... | 14 |
| 3 Marco teórico | 15 |
| 3.1 Vectores..... | 15 |
| 3.1.2 Ciclo biológico. | 16 |
| 3.2 El agente etiológico..... | 16 |
| 3.2.1 Tipificación filogenética..... | 17 |
| 3.3 Los mamíferos hospederos..... | 18 |
| 3.4 Características de un hospedero que lo convierte en reservorio de la enfermedad. | 19 |
| 4 Metodología | 20 |
| 4.1 Declaración de ética. | 20 |
| 4.2 Área de estudio..... | 20 |
| 4.3 Trabajo entomológico. | 22 |
| 4.4. Extracción de ADN. | 23 |
| 4.5 Detección molecular de infección por <i>T. cruzi</i> | 23 |
| 4.6 Evaluación de Fuentes de ingesta de <i>Triatoma dimidiata</i> en la zona de Estudio. | 25 |
| 4.7 Animales de producción y hospederos silvestres. | 25 |
| 4.7.1 Recolección de muestras de sangre en cabras, camuros y vacas..... | 25 |
| 4.7.2 Captura y toma de muestras de sangre en hospederos silvestres. | 26 |

| | | |
|-------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.7.3 | Extracción de ADN. | 27 |
| 4.7.4 | Detección molecular de infección por <i>T. cruzi</i> | 28 |
| 4.7.5 | Diagnóstico parasitológico. | 29 |
| 4.8 | Estudios con la población humana. | 29 |
| 4.8.1 | Diagnóstico serológico en la población humana. | 30 |
| 5 | Resultados | 32 |
| 5.1 | Estudio con animales de producción y hospederos silvestres. | 32 |
| 5.2 | Hemocultivos con animales de producción y hospederos silvestres. | 34 |
| 5.3 | Detección molecular de infección por <i>T. cruzi</i> | 34 |
| 5.3.1 | Animales de producción. | 34 |
| 5.3.2 | Hospederos silvestres. | 34 |
| 5.4 | Trabajo entomológico. | 35 |
| 5.5 | Infección natural con <i>T. cruzi</i> en los triatominos. | 38 |
| 5.6 | Fuentes de alimentación de <i>Triatoma dimidiata</i> | 40 |
| 5.7 | Estudios con la población humana. | 41 |
| 5.8 | Distribución espacial de frecuencias de infección por <i>T. cruzi</i> en insectos, humanos, animales de producción y hospederos silvestres. | 45 |
| 6 | Discusión | 48 |
| 6.1 | El papel de las cabras, camuros y vacas como potenciales reservorios de <i>T. cruzi</i> | 48 |
| 6.2 | Hospederos silvestres. | 50 |
| 6.3 | Ecología de <i>T. dimidiata</i> en la zona de estudio. | 52 |
| 6.4 | Infección natural por <i>T. cruzi</i> en los triatominos. | 54 |
| 6.5 | Fuentes de alimentación de <i>Triatoma dimidiata</i> | 56 |
| 6.6 | Estudios con la población humana. | 58 |
| 7 | Conclusiones | 60 |
| 8 | Limitaciones del estudio. | 61 |

| | |
|-------------------|----|
| Referencias | 62 |
|-------------------|----|

Lista de tablas

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 1. Número de animales de producción y hospederos silvestres muestreados en casas visitadas en las zonas rurales de los municipios de Soatá y Tipacoque. | 32 |
| Tabla 2. Infección por <i>T. cruzi</i> en animales de producción y hospederos silvestres. | 35 |
| Tabla 3. Porcentaje de infección natural con <i>T. cruzi</i> en los triatominos recolectados en cada localidad entre intradomicilios y peridomicilios. | 40 |
| Tabla 4. Número de personas tamizadas por localidad. | 42 |

Lista de figuras

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Fig. 1. Mapa de ubicación de los municipios de Soatá y Tipacoque | 21 |
| Fig. 2. Búsqueda y captura de insectos en áreas intradomiciliarias y peridomiciliarias. | 23 |
| Fig. 3. Toma de muestras de sangre en vacas, cabras y camuros. | 26 |
| Fig. 4. Captura y toma de muestra de sangre en Didélfidos. | 27 |
| Fig. 5. Toma de muestra de sangre en humanos y firma del consentimiento informado. | 30 |
| Fig. 6. Porcentaje de cabras y camuros muestreadas por vereda en los municipios de Soatá y Tipacoque. | 33 |
| Fig. 7. Infección por <i>T. cruzi</i> en animales de producción y hospederos y silvestres en veredas de Soatá y Tipacoque. | 35 |
| Fig. 8. Ninfas y adultos de <i>T. dimidiata</i> | 36 |
| Fig. 9. Viviendas visitadas en veredas de Soatá y Tipacoque. | 37 |
| Fig. 10. Distribución de <i>Triatoma dimidiata</i> en el área de estudio. | 37 |
| Fig. 11. Número de insectos recolectados en zonas rurales de Soatá y Tipacoque y zona urbana de Soatá. | 38 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Fig. 12. Producto de la amplificación por PCR de la región satélite de <i>T. cruzi</i> de muestras de heces de triatominos. | 39 |
| Fig. 13. Fuentes de alimentación de <i>T. dimidiata</i> | 41 |
| Fig. 14. Distribuciones de personas muestreadas por grupos etarios y por género. | 43 |
| Fig. 15. Distribuciones de casos positivos para Chagas según grupos etarios..... | 44 |
| Fig. 16. Distribución espacial de frecuencias de infección por <i>T. cruzi</i> en insectos, humanos, animales domésticos y hospederos silvestres en diferentes localidades | 47 |

Resumen

La enfermedad de Chagas, causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, constituye una de las principales problemáticas de salud pública en América Latina, afectando a millones de personas, especialmente en zonas rurales y en condiciones de vulnerabilidad. El presente estudio tiene como objetivo evaluar el rol de los animales de producción (cabras, camuros y vacas) en la transmisión de *T. cruzi* en zonas endémicas sin vectores domiciliados de los municipios de Soatá y Tipacoque en el departamento de Boyacá, Colombia, una región caracterizada por su alta infestación con *Triatoma dimidiata*.

Se realizaron análisis moleculares para detectar la presencia del parásito en vectores, animales de producción y silvestres, así como pruebas serológicas en humanos. Los resultados revelaron altas tasas de infección en cabras, camuros y vacas, alcanzando un 94,5%, 91%, y 100%. Asimismo, todos los hospederos silvestres muestreados presentaron infección por *T. cruzi*. Estos resultados sugieren que los animales de producción podrían desempeñar un papel relevante en las dinámicas de transmisión del parásito. Además, se identificó que *T. dimidiata* presenta un comportamiento alimenticio generalista y altas tasas de infección, lo que incrementa su importancia como transmisor del parásito.

En la población humana, se encontró una frecuencia de infección del 8% entre los participantes del estudio, con mayor incidencia en adultos mayores. Estos hallazgos destacan la importancia de implementar estrategias de control que incluyan medidas de prevención dirigidas a la población humana, la vigilancia activa de vectores, animales de producción y hospederos silvestres, y la educación comunitaria sobre riesgos y prácticas de higiene.

Palabras clave: *Trypanosoma cruzi*, Enfermedad de Chagas, *Triatoma dimidiata*, Reservorios, Animales de producción.

Abstract

Chagas disease, caused by the *Trypanosoma cruzi* parasite, is one of the main public health problems in Latin America, affecting millions of people, especially in rural areas and in vulnerable conditions. The present study aims to evaluate the role of livestock (goats, camuros and cows) in the transmission of *T. cruzi* in endemic areas without domiciled vectors in the municipalities of Soatá and Tipacoque in the department of Boyacá, Colombia, a region characterized by its high infestation with *Triatoma dimidiata*.

Molecular analyses were performed to detect the presence of the parasite in vectors, livestock and wild animals, as well as serological tests in humans. The results revealed high infection rates in goats, camuros, and cows, with 94.5%, 91%, and 100%. Also, all wild hosts sampled showed *T. cruzi* infection. These results indicate that livestock could play a relevant role in the transmission dynamics of the parasite. In addition, it was identified that *T. dimidiata* has a generalist feeding behavior and high infection rates, which increases its importance as a transmitter of the parasite.

In humans, an infection frequency of 8% was found among study participants, with a higher incidence in older adults. These results demonstrate the importance of implementing control strategies that include prevention measures aimed at the human population, active surveillance of vectors, livestock and wild hosts, and community education on risks and hygienic practices.

Keywords: *Trypanosoma cruzi*, Chagas disease, *Triatoma dimidiata*, Reservoirs, Livestock.

Introducción

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), más de seis millones de personas en América Latina se encuentran infectadas con *Trypanosoma cruzi*, el agente causante de la enfermedad de Chagas (OMS, 2023). La transmisión de este parásito está asociada principalmente a las condiciones de pobreza en la que viven los residentes de 21 países endémicos de América y se produce principalmente por vía vectorial, oral y congénita (OPS, 2023). Adicionalmente, producto de las migraciones de Latinoamérica a Estados Unidos, Canadá, Europa y Asia, la enfermedad es actualmente un problema global, con transmisión transfusional y congénita en estos lugares del planeta.

La enfermedad de Chagas aún no cuenta con una vacuna disponible para prevenir la infección por el parásito *Trypanosoma cruzi*. Solo se cuenta con dos medicamentos antiparasitarios para tratar esta infección, que son el Benznidazol® y el Nifurtimox®, demostrando una eficacia cercana al 100% en la fase aguda, pero su efectividad disminuye con el tiempo entre la infección y el inicio del tratamiento (OPS, 2023).

Trypanosoma cruzi se ha reportado en más de 180 especies de mamíferos, algunos de los cuales actúan como potenciales reservorios (Jansen & Roque, 2010). La circulación de *T. cruzi* entre vectores y reservorios genera diversos escenarios de transmisión, dificultando su erradicación. A pesar de esto, iniciativas basadas en el control químico de triatominos domiciliados han logrado reducir e interrumpir la transmisión en muchas áreas del continente (OPS, 2023). En Colombia, aproximadamente el 2% de la población está infectada, con una concentración más alta en regiones como la Orinoquia, Amazonia, los Santanderes, Cesar, Tolima, Boyacá, Cundinamarca y la Sierra Nevada de Santa Marta (Olivera et al. 2019; Minsalud, 2019). La enfermedad de Chagas ha sido prioritaria en Colombia desde la década de 1970. Estudios nacionales en los años de 1976-1980 y 1998-2001 destacaron a *Rhodnius prolixus* como el principal vector de *T. cruzi*, estableciendo la base para programas de control vectorial destinados a interrumpir la transmisión en poblaciones domiciliadas de este vector (Corredor Arjona, 2000; Guhl et al., 2007).

Actualmente, la Organización Panamericana de la Salud ha certificado 66 municipios en 6 departamentos, como “libres de transmisión vectorial de *Trypanosoma cruzi* por *Rhodnius prolixus* intradomiciliado” (MinSalud, 2019). Sin embargo, Colombia cuenta con 26 especies más de triatomíneos, de los cuales 16 se reportan infectados, que mantienen diferentes dinámicas de transmisión en los diversos paisajes ecológicos que ofrece la geografía nacional. Diversos estudios llevados a cabo en especies de triatomíneos de menor importancia epidemiológica para Colombia, evidenciaron una alta tasa de infección natural en 6 especies de vectores: *Triatoma dimidiata*, *Panstrongylus geniculatus*, *Triatoma maculata*, *Rhodnius pallescens* y *Triatoma venosa* (Guhl et al., 2007). Estos vectores secundarios se reportan generalmente con diferentes genotipos del parásito de acuerdo con la especie de triatomíneos y la región geográfica en que se distribuyen, lo que habla de su participación en varios ciclos de transmisión (Hernández et al., 2016). Adicionalmente, no se ha encontrado una preferencia clara en los patrones de alimentación, sino por lo contrario un patrón generalista en donde predomina alimentación variada, con presencia de sangre humana, de aves de corral, murciélagos, zarigüeyas, roedores, caninos, bovinos y armadillos, situación que llama la atención a la comunidad científica nacional (Cantillo-Barraza et al., 2015; Hernández et al., 2016).

Boyacá, es uno de los departamentos con la mayor cantidad de municipios certificados por la OPS. Sin embargo, la presencia de otras especies nativas de menor relevancia epidemiológica reportadas en los domicilios como *T. dimidiata*, *T. venosa* y *P. geniculatus*, es una de las principales preocupaciones de los programas de control debido al riesgo de reactivación o mantenimiento de la transmisión de *T. cruzi* en estas zonas. Estudios recientes han revelado que *T. dimidiata* es la especie más común y ampliamente distribuida, con un índice de infección natural del 37,8%. En la zona de distribución de esta especie, se encontró que la provincia Norte donde se encuentran los municipios de Soatá y Tipacoque se encuentra la mayor abundancia e índices de infección e infestación (Cantillo-Barraza et al., 2021).

Soatá, es un municipio certificado por la OPS en el año 2015, en donde se ha reportado a *T. dimidiata* como el vector predominante, con presencia en intradomicilios y peridomicilios de la zona rural y una alta movilidad entre estos dos ecotopos (Cantillo-Barraza et al. 2021; Velásquez et al., 2022). Los índices entomológicos de esta especie sugieren un proceso de domiciliación en la

zona y el comportamiento generalista en su alimentación, supone una importancia significativa en la dinámica de transmisión de *T. cruzi* (Velásquez et al., 2022). La diversidad de fuentes de sangre encontradas en esta especie, puede favorecer la diversidad genética del parásito, influir en su capacidad para infectar diferentes hospedadores y generar formas más virulentas del parásito (Ramírez et al., 2013).

Este comportamiento ecológico de especies del género triatoma, ha sido descrito en escenarios de transmisión similares descritos en el sur del continente, donde estudios eco-epidemiológicos han demostrado que la convivencia de triatomíneos con animales domésticos, como perros y gatos, aumenta el riesgo de transmisión de la enfermedad a los humanos (Gürtler et al., 2007). Sin embargo, poco o nada se ha explorado acerca del papel de los animales de producción (caprinos, ovinos y bovinos) en las dinámicas de transmisión que involucran especies generalistas en su alimentación y que poseen alta movilidad entre peridomicilio e intradomicilio como *T. dimidiata*.

La zona rural de los municipios de Soatá, y Tipacoque está caracterizada por la presencia de pequeñas unidades productivas basadas en la cría de cabras, camuros y vacas que mantienen la economía local. Estas actividades económicas, concentran un gran número de especímenes en establos o con otros métodos para la restricción de la movilidad, facilitando el contacto con *T. dimidiata*. Estas características eco-epidemiológicas de la zona rural de ambos municipios, genera la pregunta sobre cuál es el papel de los animales de producción en la transmisión de *T. cruzi* en una zona con alta infestación por *T. dimidiata*.

Debido a la dieta que poseen estos mamíferos de base estrictamente herbívora, su ruta de infección debe estar asociada a la transmisión vectorial clásica, por lo que la evaluación de sus niveles de infección sería una estimación de la capacidad vectorial de *T. dimidiata*. Adicionalmente, el papel en la economía local de estas especies en la producción de carne, podrían favorecer la ocurrencia de casos de transmisión accidental por manipulación de productos cárnicos durante el beneficio del animal, proceso que se hace de manera artesanal en las propias granjas o viviendas, por lo que el conocimiento del estado de infección de estos mamíferos podrá ayudar a construir programas de educación para la comunidad productora.

En este contexto, el presente estudio busca evaluar el rol de los animales de producción como cabras, camuros y vacas en la transmisión de *T. cruzi* en zonas endémicas sin vectores domiciliados de los municipios de Soatá y Tipacoque en el departamento de Boyacá. Lo que se logrará mediante la aplicación de métodos moleculares para la detección del parásito en insectos vectores y animales domésticos y silvestres, análisis de fuentes de alimentación de triatomos y estudios serológicos en humanos. Con todo esto, se pretende aportar evidencia científica que permita comprender mejor las interacciones eco-epidemiológicas en estos municipios y diseñar nuevas estrategias de control.

2 Objetivos

2.1 Objetivo general

Explorar el rol como potenciales reservorios de los animales de producción (cabras, camuros y vacas) en la transmisión de *Trypanosoma cruzi* en zonas endémicas sin vectores domiciliados.

2.2 Objetivos específicos

Estimar la frecuencia de infección natural de los animales de producción y hospederos silvestres por métodos moleculares.

Estimar la capacidad de transmisibilidad de *T. cruzi* de los animales de producción y hospederos silvestres mediante hemocultivos.

Evaluar la infección natural y fuentes de alimento de los triatominos recolectados a través de métodos moleculares.

Evaluar la frecuencia de transmisión reciente en humanos mediante pruebas serológicas.

3 Marco teórico

La enfermedad de Chagas también conocida como tripanosomiasis americana es una enfermedad tropical desatendida causada por la infección con el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*, el cual es transmitido por insectos de la subfamilia Triatominae, a los seres humanos y otros mamíferos cuando la piel herida entra en contacto con las heces del insecto infectadas con el parásito (Guhl et al., 2007). Aunque también puede transmitirse verticalmente de una madre infectada a su hijo durante el embarazo, a través de la donación de sangre u órganos de un individuo infectado o por ingestión de alimentos o bebidas contaminados.

Esta enfermedad presenta dos ciclos de transmisión: Un ciclo doméstico, definido como la entrada de triatominos silvestres en las viviendas y su posterior propagación, evidenciada por la presencia de al menos tres estadios de desarrollo los triatominos silvestres que pueden entrar en viviendas donde se puede obtener tanto refugio y alimento como sangre humana y/o de animales domésticos (Guhl et al., 2007) y un ciclo enzoótico/selvático, que involucra a una multitud de mamíferos y vectores que dependen de las variables ambientales y la disponibilidad de alimentos (Gurgel et al., 2012; Miles et al., 1983).

3.1 Vectores.

Triatominae es una subfamilia de insectos de la familia Reduviidae del orden Hemiptera con aproximadamente 160 especies, que se alimentan de sangre de invertebrados. La mayoría de estos tienen hábitos estrictamente silvestres y viven en asociación con aves, lagartos y mamíferos (Altcheh, J & Freilij H, 2019). Se encuentran en grietas dentro de paredes de barro y en construcciones hechas de palmas. Estos vectores se clasifican en vectores primarios, secundarios y sin relevancia epidemiológica, según su grado de asociación con los humanos. Los vectores primarios son capaces de colonizar domicilios permanentemente, mostrando antropofilia y alta infección con el parásito. Los vectores secundarios son generalmente nativos con mayor asociación a peridomicilios y reservorios silvestres, pero pueden invadir y colonizar casas (Días JCP & Diotaiuti L, 1998). Aquellas especies sin capacidad de invadir espacios habitados por humanos y

consideradas sin relevancia epidemiológica comprobada se consideran de este último grupo (Guhl F & Lazdins-Helds J, 2007).

Aunque existen muchas especies de hemípteros hematófagos de la familia *Reduviidae* que pueden ser intermediarios de *T. cruzi*, sólo unas pocas son vectores competentes (Zeledón R & Rabinovich JE, 1981). Entre los más importantes para la transmisión humana están los que se establecieron como domiciliarios como *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus*, *Panstrongylus megistus* y *Triatoma dimidiata*.

Según su distribución geográfica, *Triatoma infestans* es el vector principal en las áreas endémicas subamazónicas, así como en los países situados en el Cono Sur. Dentro de Brasil, específicamente a lo largo de la costa atlántica subamazónica, *Triatoma infestans* coexiste con *Panstrongylus megistus*. Por otro lado, *Rhodnius prolixus* se distribuye por Centroamérica y Colombia, mientras que *Triatoma dimidiata* se extiende desde el norte de México y Centroamérica hasta la costa del Pacífico, ubicada en Colombia y Ecuador (Brener et al., 2000).

3.1.2 Ciclo biológico.

El ciclo vital de los triatominos incluye fases de huevo, cinco fases ninfales o inmaduras que mudan en adultos masculinos y femeninos. Al tener una metamorfosis incompleta, las ninfas comparten el mismo hábitat y hábitos alimentarios que las fases adultas, lo que las hace hematófagas y propensas a la transmisión de *T. cruzi*. La ingestión de sangre es un proceso esencial para la muda (ecdysis) de los insectos. Después de una comida, los insectos pueden aguantar períodos prolongados sin necesitar más alimento. Por lo general, sólo es necesario alimentarse una vez entre cada muda. (Altcheh, J & Freilij H, 2019).

3.2 El agente etiológico.

Trypanosoma cruzi es un protozoo perteneciente a la familia Trypanosomatidae del orden Kinetoplastida. Estos microorganismos se distinguen por poseer una estructura denominada kinetoplasto y un flagelo que emerge del extremo anterior del parásito. En su entorno natural, este

parásito sigue un ciclo de vida indirecto que requiere dos huéspedes para completarse; los huéspedes definitivos son los mamíferos, mientras que los huéspedes intermedios son los insectos triatominos. (Altcheh, J & Freilij H, 2019).

Su ciclo de vida comienza cuando el insecto vector ingiere tripomastigotes al alimentarse de un hospedador infectado. Estos tripomastigotes experimentan la metaciclologénesis en el intestino del insecto, transformándose en tripomastigotes metacíclicos que son excretados en las heces durante la alimentación. Estas formas infecciosas pueden ingresar al hospedador final a través de picaduras, heridas o membranas mucosas, infectando células cercanas. Dentro de las células, los tripomastigotes se convierten en amastigotes, se dividen y vuelven a transformarse en tripomastigotes, pudiendo circular en la sangre, entrar en nuevas células o ser ingeridos por otro insecto vector.

En el interior de las células del hospedador, los tripomastigotes son rodeados por una vacuola parasitófora y luego se transforman en amastigotes, seguido por una división celular binaria. Posteriormente, los amastigotes se convierten nuevamente en tripomastigotes, durante lo cual el parásito desarrolla un flagelo móvil que contribuye a romper las células y liberar los tripomastigotes en el espacio intracelular. El ciclo de transmisión se reinicia cuando un triatomino se alimenta de un mamífero infectado (Dvorak et al., 1975; de Souza et al., 2000).

3.2.1 Tipificación filogenética.

Debido a su diversidad genética, *Trypanosoma cruzi* se ha clasificado en seis Unidades Discretas de Tipificación (DTUs) en asociación con ciclos de transmisión: TcI, TcII, TcIII, TcIV, TcV y TcVI (Zingales et al., 2009), y un séptimo llamado Tc Bat asociado con murciélagos en Brasil, Panamá y Colombia (Marcili et al., 2009; Pinto et al., 2012; Ramirez et al., 2014). Lo que fue propuesto en una reunión de expertos donde se revisó la nomenclatura de *T. cruzi* para llegar a un consenso, y los linajes de *T. cruzi* se clasificaron en esas DTUs (Zingales et al., 2009).

Mediante marcadores de ADN, se definieron dos linajes filogenéticos principales: TcI y TcII (DTU II a VI). TcI es ampliamente distribuido en América y asociado tanto a ciclos selváticos

como domésticos, siendo especies del género *Rhodnius* los principales vectores y los mamíferos selváticos sus principales hospedadores. Se ha descrito que esta DTU presenta una importante heterogenicidad genética, teniendo dos subdivisiones de TcI (TcIDom y TcI sylvatic). En Colombia, se reportó como principal DTU el TcI y cuando se refirieron a infección humana el genotipo predominante fue el TcIDom durante la fase crónica (Hernández et al., 2016). Si bien la TcI es la DTU dominante en Colombia, todas las demás DTU, incluidas la TcV y la TcVI, se han registrado en focos domésticos y selváticos (Guhl et al., 2013).

El antiguo linaje TcII se ha observado en las regiones del sur y centro de Sudamérica. En el contexto de la salud humana, se ha relacionado con manifestaciones cardíacas y digestivas (Zingales, 2018). En cuanto a la TcIII la infección humana es extremadamente rara; en cambio, TcIV está presente en América del Norte y del Sur, mostrando linajes distintos en ambas áreas geográficas (Marcili et al., 2009). TcV y TcVI, híbridos de TcII y TcIII, predominan en el sur y centro de Sudamérica, asociados a la transmisión vertical y a la enfermedad de Chagas crónica. (Zingales et al., 2012, 2018).

Es importante mencionar que tanto el vector como los mamíferos pueden estar infectados por más de una DTU. Lo que podría generar interpretaciones erróneas debido a diferencias en la velocidad de duplicación o en los tropismos para las diversas poblaciones de parásitos (Zingales, 2018).

3.3 Los mamíferos hospederos.

T. cruzi tiene una baja especificidad por hospedadores definitivos, por lo que puede infectar prácticamente a cualquier mamífero. Los humanos, y los animales domésticos como perros y gatos, suelen infectarse en el interior de las viviendas o en los peridomicilios. Otros animales como cabras, cobayas y roedores domiciliados también pueden infectarse en el peridomicilio. Todos estos animales pueden ser portadores del parásito, lo que es de gran importancia, ya que podrían desempeñar un papel en la transmisión de *T. cruzi* a los seres humanos. En entornos naturales, varios mamíferos, incluyendo la zarigüeya, están naturalmente infectados. Algunos de estos

animales, al tener una alta cantidad de parásitos en su sangre, funcionan como portadores muy eficaces. (Altcheh, J & Freilij H, 2019).

3.4 Características de un hospedero que lo convierte en reservorio de la enfermedad.

Se ha considerado como reservorio de un parásito a aquel hospedador que posee, las siguientes propiedades según Ashford (1996) y Haydon et al. (2002): Mantiene a las poblaciones de los parásitos por largo tiempo en cada ecosistema, presenta una carga parasitaria que garantiza su transmisibilidad y, se encuentra en una densidad poblacional apropiada (20% o más de la mastofauna estudiada para la zoonosis) que facilita el encuentro hospedador-vector, hospedador-ambiente, hospedador-hospedador según el tipo de transmisión.

4 Metodología

4.1 Declaración de ética.

Este proyecto contó con la aprobación del comité de Ética para la Experimentación con Animales de la Universidad de Antioquia, como se evidencia en el acta de sesión N°149 del 06 de diciembre de 2022. Todos los animales fueron manejados siguiendo las buenas prácticas animales definidas en el código colombiano de prácticas para el cuidado y uso de animales con fines científicos, establecido por la ley 84 de 1989. También se contó con el aval del Comité de Bioética de la Sede Investigación Universitaria, como se evidencia en el acta 22-02-1004 aprobada el 14 de diciembre de 2022.

4.2 Área de estudio.

La investigación se llevó a cabo en zonas rurales de los municipios de Soatá ($6^{\circ}19'58''N$ $72^{\circ}41'02''O$) y Tipacoque ($6^{\circ}25'13''N$ $72^{\circ}41'30''O$) pertenecientes al departamento de Boyacá. El municipio de Soatá limita con los municipios de Boavita por el oriente, Onzaga por el occidente, Tipacoque por el norte y Susacón por el sur. Está situado a 160 km de Tunja, la capital de Boyacá. Su territorio abarca 136 km², incluyendo el área urbana con doce barrios y la zona rural que comprende nueve veredas: Espinal, Laguna, Costa, Jabonera, Chorrera, Llano Grande, Hatillo, Molinos y Centro. Está a una altura de 1950 msnm, con una temperatura media de 20 °C. El municipio presenta dos áreas con distintas elevaciones y grados de transformación del paisaje: una zona cálida y baja junto al río Chicamocha, donde predomina la vegetación típica de bosque seco premontano, y otra zona de páramo con vegetación típica de bosque de robledal (Alcaldía Municipal de Soatá, 2020).

Tipacoque limita con los municipios de Covarachía y Capitanejo por el norte, con Soatá por el sur, y por el oriente y occidente con el cañón del río Chicamocha y un ramal de la cordillera oriental de Santander. El municipio se compone de siete veredas: Ovachia, Cañabravo, La Carrera, El Palmar, La Calera, Galván y Bavatá. Su terreno es montañoso, con altitudes que van desde los 1200 m en las riberas del río Chicamocha hasta los 3000 m en el punto más alto conocido como la

Cruz del Roble. El clima predominante es templado y seco, característico del cañón del Chicamocha, aunque la vegetación varía debido a los diferentes pisos térmicos (Alcaldía Municipal de Tipacoque, 2018).

Para este estudio, las veredas seleccionadas fueron Jabonera, Chorrera, Espinal, Laguna, Llano Grande, Costa, Ovachia, Cañabravo y Bavatá (Fig.1), zonas que han sido reportadas con una alta presencia de *Triatoma dimidiata*, el insecto vector predominante en la región (Cantillo-Barraza et al., 2021; Velásquez et al., 2022).

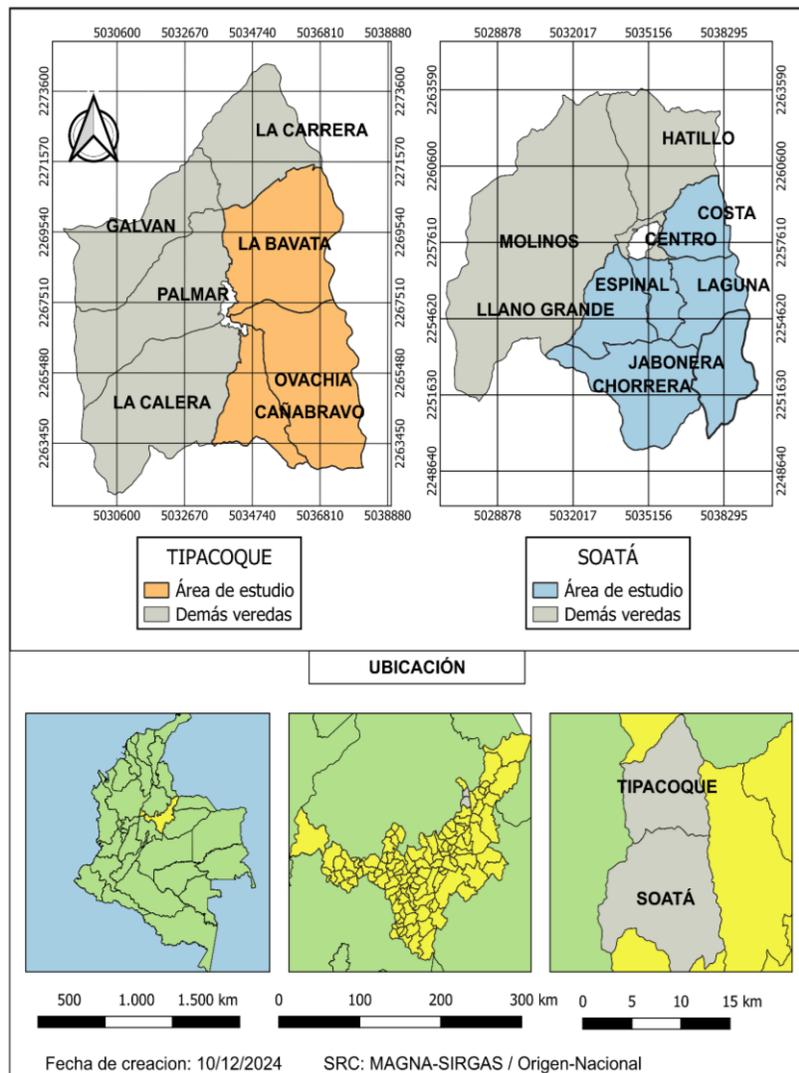


Fig. 1. Mapa de ubicación de los municipios de Soatá y Tipacoque con las respectivas veredas seleccionadas como el área de estudio. Este mapa fue realizado con el programa QGIS versión 3.38. Las capas fueron descargadas de la página web del Departamento Administrativo Nacional

de Estadística (DANE) (<https://geoportal.dane.gov.co/servicios/descarga-y-metadatos/datos-geoestadisticos/>). Mapa de elaboración propia.

4.3 Trabajo entomológico.

En compañía del personal técnico del programa de control de vectores de la secretaría de salud de Boyacá, se realizó la recolección de adultos y ninfas de triatominos mediante la búsqueda activa en zonas intradomiciliarias y peridomiciliarias durante 30 minutos siguiendo los Protocolos Nacionales de Vigilancia Entomológica que se indican a continuación: se utilizó una linterna para ver en grietas y hendiduras de la pared, detrás de marcos de cuadros montados en la pared, detrás de muebles, dentro de armarios y, en particular, debajo del material de cama. En las áreas peridomiciliarias, se inspeccionaron los alrededores de las viviendas, áreas donde mantienen acumulaciones de objetos como leña, piedras, etc. y sitios de permanencia de los animales, como establos y gallineros, revisando las aberturas de las paredes, detrás de las puertas, alrededor de los ponederos de las gallinas y en los soportes de los techos (Fig.2).

En trabajos de recolección anteriores, los funcionarios entregaron recipientes de plástico a los residentes con el propósito de que ellos se encarguen de capturar los triatominos que encuentren, brindando a su vez información sobre cómo deben ejecutar esta labor. Los habitantes llevaban estos insectos a los Puntos de Recolección de Triatominos (PIT) establecidos por la Secretaría de Salud, ubicados en el hospital San Antonio de Soatá y en la alcaldía de Tipacoque, o los entregaban directamente a los investigadores durante la búsqueda activa. Todas las muestras entomológicas enviadas a los PIT estaban etiquetadas con información del departamento, municipio, vereda, propietario, sitio de recolección (peridomicilio o intradomicilio) y fecha. Los insectos fueron identificados según las claves taxonómicas de Lent y Wygodzinsky (1979) y posteriormente transportados al laboratorio BCEI de la Universidad de Antioquia en Medellín, donde se evaluaron para infección por *T. cruzi* utilizando métodos moleculares.

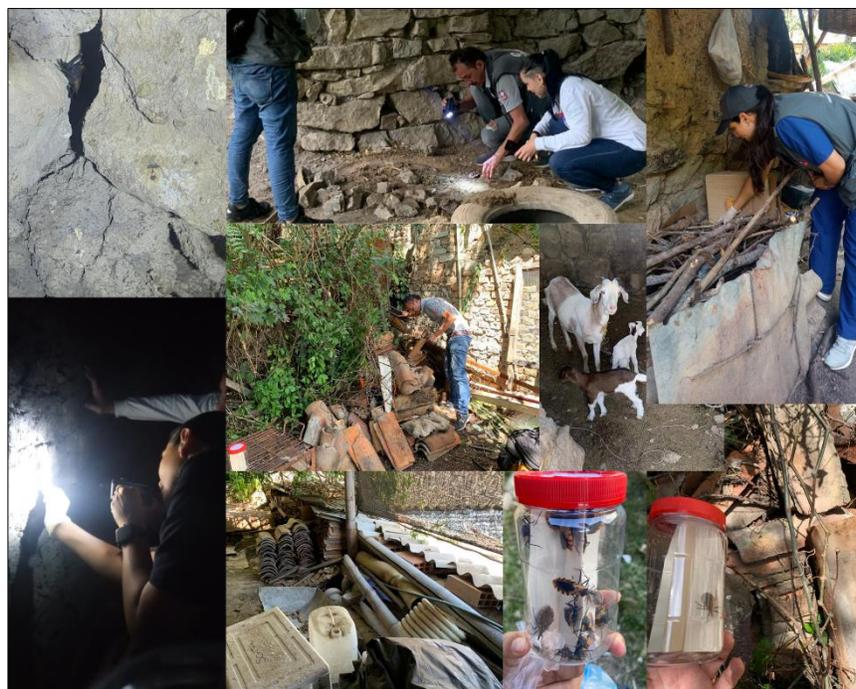


Fig. 2. Búsqueda y captura de insectos en áreas intradomiciliarias y peridomiciliarias.

4.4. Extracción de ADN.

Los insectos fueron sacrificados y disecados para obtener las heces, mediante compresión abdominal, diluyendo 500 - 600 μL de PBS estéril (pH 7.2). El ADN se extrajo a partir de 200 μL de las heces extraídas, utilizando el kit de purificación de ADN genómico (DNeasy Blood and Tissue Kit, Qiagen, Hilden, Alemania), siguiendo las instrucciones del fabricante.

La concentración del ADN obtenido se cuantificó utilizando el espectrofotómetro Nanodrop 2000 (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, USA) y almacenado a -20°C en un freezer hasta su uso.

4.5 Detección molecular de infección por *T. cruzi*.

Con el fin de identificar la presencia de *Trypanosoma cruzi*, se llevó a cabo una PCR convencional y en tiempo real utilizando el marcador de ADN satélite.

Para la PCR convencional, los cebadores empleados fueron TCZ1 (5'-GCT CTT GCC CAC AAC GGG TGC-3') y TCZ2 (5'-CCS SGC AGC GGA TAG TTC AGG-3'), los cuales amplifican una secuencia de 190 pb. Los ensayos se llevaron a cabo en un termociclador Biometra T-Gradient con un volumen final de 25 μ L, que contenía una concentración final de TaqBuffer Thermo Fisher Scientific® al 1x, 1.5 mM de MgCl₂, 0.04 mM de dNTPs, 0.4 μ M de cada cebador, 1.25 U de Taq polimerasa y 1 μ L de muestra de ADN. Cada reacción se realizó utilizando un control positivo (1 μ L) denominado AC17, derivado de un cultivo de epimastigotes de *T. cruzi* y un control negativo, que solamente contenía los reactivos del kit y agua. La reacción comenzó con una fase inicial de desnaturalización a 95°C por 15 minutos, seguida de 40 ciclos que consisten en 95°C durante 10 segundos, 55°C durante 15 segundos y 72°C durante 10 segundos, finalizando con 5 minutos a 72°C para estabilizar el ADN.

El producto de la PCR se visualizó mediante un gel de agarosa al 1,8%, teñido con 2 μ L de GelRed y expuesto a radiación UV.

Con el propósito de mejorar la sensibilidad de las muestras, se realizó una qPCR, siguiendo las condiciones reportadas por el Grupo de Investigaciones Microbiológicas UR (GIMUR) de la Universidad del Rosario. Para esta PCR, se emplearon los cebadores Cruzi 1 (ASTCGGCTGATCGTTTTTC), Cruzi 2 (AATTCCTCCAAGCAGCGGATA) y la sonda Cruzi 3 (FAM-CACACACTGGACACCAA-NFQ-MGB) encargados de amplificar una secuencia de 166 pb. Se preparó un master mix con un volumen final de 25 μ L, que incluyó una concentración final de un Master mix Roche al 1X, los cebadores Cruzi 1 (0.75 μ M), Cruzi 2 (0.75 μ M), la sonda Cruzi 3 (0.05 μ M), 5 μ L de muestra de ADN y 5 μ L de dilución de la curva de parásitos. En el equipo de PCR en tiempo real (Applied Biosystems™ 7500 Real-Time PCR Systems) con las condiciones de reacción necesarias se generó un primer paso de 50 °C durante 2 minutos, seguido de una etapa de desnaturalización inicial a 95 °C durante 10 minutos, y finalmente, 40 ciclos de amplificación que alternan entre 95 °C por 15 segundos y 58 °C por 1 minuto (lectura de fluorescencia).

4.6 Evaluación de Fuentes de ingesta de *Triatoma dimidiata* en la zona de Estudio.

Para identificar las fuentes de alimento en los insectos recolectados, el ADN genómico extraído de las heces se sometió a una PCR convencional dirigida al gen 12S mitocondrial. Para ello, se amplificó un fragmento de aproximadamente 200 pb utilizando los primers L1085 (CCCAAAGTGGGATTAGATACCC) y H2198 (GTTTGCTGAAGATGGCGGTA). El perfil térmico empleado consistió en una desnaturalización inicial a 95 °C durante 5 minutos, seguida de 40 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 30 segundos, alineamiento a 57 °C durante 15 segundos y extensión a 72 °C durante 30 segundos. Finalmente, se realizó una extensión final a 72 °C durante 10 minutos.

Posteriormente, las muestras amplificadas fueron secuenciadas utilizando el método Sanger, asegurando la obtención de ambas hebras del fragmento amplificado. Las secuencias de las dos hebras fueron ensambladas mediante la herramienta SeqMan (DNASTAR Lasergene Packages). Las secuencias ensambladas fueron comparadas con secuencias depositadas en bases de datos genéticas como GenBank utilizando la herramienta BLASTN, para identificar las especies hospedadoras asociadas a los triatominos.

4.7 Animales de producción y hospederos silvestres.

4.7.1 Recolección de muestras de sangre en cabras, camuros y vacas.

Se seleccionaron animales de establecimientos pertenecientes a hogares con infestación en sus viviendas, según informes de avistamiento realizados por los propietarios en el último año, así como de casas que reportaron eventos de infestación (Cantillo Barraza et al., 2021). Los animales seleccionados fueron aquellos que los residentes permitieron ser parte del muestreo y en el que todas las cabras y camuros a las que se le tomaron sangre eran adultos.

Los criterios de inclusión para estos mamíferos fueron: (I) haber nacido y crecido en el área de estudio, (II) tener un dueño identificable y (III) contar con el consentimiento informado de sus propietarios.

La toma de muestras en cabras, camuros y vacas las realizó un médico veterinario adscrito al programa de Control de Vectores de la Secretaría de Salud de Boyacá. Para esto, se realizó la inmovilización del animal con la ayuda del personal técnico y los residentes de la casa visitada, a través de la sujeción firme con las manos de los cuernos del animal si los presentaba o de las orejas si no los presentaba. Para obtener la muestra de sangre, se limpió la zona del cuello con algodón y alcohol, seleccionando la vena yugular previamente ingurgitada mediante presión en la base del cuello, en el área del surco yugular. Luego, con jeringas de 3 ml y 5 ml y una aguja de 21G 11/2” (ambas estériles y de uso individual por cada animal), se realizó la punción en un ángulo de 45° con respecto al cuello (Fig.3). Para las vacas, se siguió un proceso similar y se optó por inmovilizar el animal sujetándolo con una cuerda, tomando la muestra de sangre de la vena coccígea (Fig.3). El volumen tomado de cada animal fue de 3 mL a 5 mL de sangre. Las muestras fueron depositadas en tubos vacutainer con EDTA que fueron rotulados con los datos del número de la casa visitada y número de animal muestreado para luego ser almacenados en frío (-20°C) hasta la extracción del ADN en el laboratorio.



Fig. 3. Toma de muestras de sangre en vacas, cabras y camuros.

4.7.2 Captura y toma de muestras de sangre en hospederos silvestres.

Los mamíferos sinantrópicos fueron capturados con trampas Tomahawk® en áreas peridomésticas. Siguiendo la metodología de escogencia razonada, tres trampas fueron instaladas

durante tres noches consecutivas en las viviendas donde los residentes manifestaron haber avistado mamíferos silvestres durante las últimas semanas. Se utilizó un cebo dentro de cada trampa, compuesto por una mezcla de mantequilla de maní, avena en hojuelas y esencia de vainilla, junto con trozos de piña y banano. La muestra de sangre se obtuvo sujetando cuidadosamente la cola del animal y extrayendo un volumen de 0.3 mL (Fig.4), que se depositó en un tubo vacutainer con EDTA y se almacenó a -20°C hasta la extracción del ADN. Todos los mamíferos analizados fueron devueltos a sus hábitats originales una vez finalizado el procedimiento experimental.



Fig. 4. Captura y toma de muestra de sangre en *Didélfidos*.

4.7.3 Extracción de ADN.

Se realizó extracción de ADN de las muestras provenientes de sangre de vacas (*Bos taurus*), cabras (*Capra aegagrus hircus*), camuros (*Ovis aries*) y zarigüeyas (*Didelphis marsupialis*). Para todos los mamíferos, el ADN genómico se extrajo de 200 μL de sangre utilizando el kit de purificación de ADN genómico (DNeasy Blood and Tissue Kit, Qiagen, Hilden, Alemania), siguiendo las instrucciones del fabricante.

La concentración del ADN obtenido se cuantificó utilizando el espectrofotómetro Nanodrop 2000 (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, USA) y posteriormente almacenada a -20°C en un freezer hasta su uso.

4.7.4 Detección molecular de infección por *T. cruzi*.

Al igual que en el diagnóstico molecular realizado en los insectos, se detectó la presencia de *T. cruzi* en las muestras de ADN de las vacas, cabras, camuros y zarigüeyas, a través de una PCR convencional y en tiempo real dirigida al ADN satélite.

En la PCR convencional, se utilizaron los cebadores TCZ1 (5'-GCT CTT GCC CAC AAC GGG TGC-3') y TCZ2 (5'-CCS SGC AGC GGA TAG TTC AGG-3'). La PCR fue realizada en un termociclador Biometra T-Gradient con un volumen final de 25 µL, que contenía TaqBuffer Thermo Fisher Scientific® al 1x, 1.5 mM de MgCl₂, 0.04 mM de dNTPs, 0.4 µM de cada cebador, 1.25 U de Taq polimerasa y 1 µL de ADN molde. Cada reacción fue llevada a cabo con un control positivo, (Cam1) proveniente de sangre de camuro infectada con *T. cruzi* y un control negativo (agua). La reacción comenzó con una fase inicial de desnaturalización a 95°C por 15 minutos, seguida de 40 ciclos que consisten en 95°C durante 10 segundos, 55°C durante 15 segundos y 72°C durante 10 segundos, finalizando con 5 minutos a 72°C para estabilizar el ADN.

El producto de la PCR se visualizó mediante un gel de agarosa al 1,8%, teñido con 2 µL de GelRed y expuesto a radiación UV.

En la PCR en tiempo real, se emplearon los cebadores Cruzi 1 (ASTCGGCTGATCGTTTTTC), Cruzi 2 (AATTCCTCCAAGCAGCGGATA) y la sonda Cruzi 3 (FAM-CACACACTGGACACCAA-NFQ-MGB) encargados de amplificar una secuencia de 166 pb. Se preparó un master mix con un volumen final de 25 µL, que incluyó una concentración final de un Master mix Roche al 1X, los cebadores Cruzi 1 (0.75 µM), Cruzi 2 (0.75 µM), la sonda Cruzi 3 (0.05 µM), 5 µL de muestra de ADN y 5 µL de dilución de la curva de parásitos. En el equipo de PCR en tiempo real (Applied Biosystems™ 7500 Real-Time PCR Systems) la reacción fue generada con el siguiente perfil térmico: un primer paso de 50 °C durante 2 minutos, seguido de una etapa de desnaturalización inicial a 95 °C durante 10 minutos, y finalmente, 40 ciclos de amplificación que alternan entre 95 °C por 15 segundos y 58 °C por 1 minuto (lectura de fluorescencia).

4.7.5 Diagnóstico parasitológico.

Para evaluar la capacidad de transmisibilidad (Jansen & Roque, 2010) de los mamíferos, se realizaron hemocultivos. Proceso que consistió primeramente en tomar muestras de sangre por venopunción para el desarrollo de hemocultivos en dos tubos de ensayo con medio Novy-Mc Neal-Nicole (NNN) suplementado con medio LIT (Liver Infusion Tryptosa) como fase líquida. En cada tubo se sembraron entre 0,3 y 0,5 mL de sangre total de cada animal. Los hemocultivos fueron revisados semanalmente por tres meses hasta la detección de flagelados o no detección de estos mismos.

4.8 Estudios con la población humana.

Con el propósito de conocer la frecuencia de pobladores infectados, con *T. cruzi*, se realizó un estudio serológico por conveniencia en residentes de las veredas, en donde se llevó a cabo el estudio. El tamaño de la muestra a estudiar se determinó realizando un cálculo con los siguientes datos: Universo 8832 personas residentes en el municipio (DANE 2020; Secretaría de Planeación Municipal, Soata, 2023), prevalencia esperada 2,6% (Suescun et al 2017), error de muestreo 3% y efecto del diseño 1,0%. El tamaño de la muestra fue de 100 personas, quienes fueron elegidas por aceptación voluntaria sin discriminar en edad, sexo, etnia o estrato social.

Para la recolección de muestras, se emplearon materiales estériles y asépticos, como algodón, alcohol, guantes, tapabocas, tubos Vacutainer y agujas para Vacutainer. El procedimiento fue realizado por una bacterióloga, quien extrajo entre 3 mL y 5 mL de sangre del brazo no dominante mediante venopunción, asegurando la asepsia con alcohol al 70% en la zona de punción (Fig.5). Además, se aplicaron pruebas rápidas Chagas Detect™ Plus de la marca InBios®, la cual detecta anticuerpos de *T. cruzi* en suero y sangre de humanos. La información personal de cada persona se registró en una ficha de recolección de datos, y se obtuvo el consentimiento informado de manera formal (Fig.5).

Las muestras de sangre fueron centrifugadas y almacenadas entre 4°C y 8°C antes de ser trasladadas al laboratorio BCEI de la Universidad de Antioquia, donde el suero fue conservado en frío hasta su posterior procesamiento.



Fig. 5. Toma de muestra de sangre en humanos y firma del consentimiento informado.

4.8.1 Diagnóstico serológico en la población humana.

Siguiendo los lineamientos del Instituto Nacional de Salud, se realizaron dos tipos de pruebas de ensayo inmunoenzimático (ELISA): la primera de antígenos totales Chagatest ELISA de la marca Wiener® y la segunda de antígenos recombinantes CHAGATEK ELISA de la marca Lemos®. Como prueba confirmatoria, se realizó la prueba ELISA de antígenos recombinantes, la cual es un ensayo inmunoenzimático basado en el método indirecto de tercera generación que emplea antígenos recombinantes para detectar anticuerpos IgG específicos contra *Trypanosoma cruzi* en muestras de suero o plasma humano.

El procedimiento de esta prueba implicó varias etapas. Primero, se prepararon los reactivos y se calcularon los volúmenes necesarios para procesar 100 muestras de sangre. Después de diluir adecuadamente las muestras, se incubaron en pocillos de poliestireno recubiertos con antígenos purificados del lisado de *T. cruzi*. Se añadió la muestra de suero del paciente para permitir que los

anticuerpos específicos se unieran a los antígenos fijados en los pocillos, quedando adheridos a la fase sólida. Tras un proceso de lavado para eliminar las inmunoglobulinas no unidas, se incubaron con anticuerpos monoclonales anti-IgG humana conjugados con peroxidasa, los cuales reaccionan de forma específica con los anticuerpos anti-*T. cruzi* capturados.

El conjugado no unido se elimina mediante un proceso de lavado, y la presencia de peroxidasa se detecta al añadir una mezcla de peróxido de hidrógeno y tetrametilbencidina (TMB). Durante la incubación, se genera un color azul cuya intensidad está relacionada con la concentración y afinidad de los anticuerpos anti-*T. cruzi* presentes en la muestra. Finalmente, la reacción enzimática se detiene al añadir ácido sulfúrico, un sustrato cromogénico que, al ser hidrolizado por la enzima, produce un virage de color azul a amarillo.

Visualmente, el Control Negativo debe ser incoloro o celeste tenue, lo que indica la ausencia de niveles detectables de anti-*T. cruzi* en la muestra. Por otro lado, el control positivo debe exhibir un color azul claramente distinguible en comparación con los controles negativos. Las muestras que son incoloras o tienen una coloración similar a los controles negativos se consideran no reactivas, mientras que aquellas con una coloración más intensa y claramente diferenciada se clasifican como reactivas.

La intensidad del color obtenido se mide mediante un espectrofotómetro, permitiendo cuantificar la presencia de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* y establecer así un diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas. En este paso se procede a la lectura de los pocillos, siguiendo las instrucciones del lector asignando filtros de lectura de 450 nm y 490 nm. Tras la lectura espectrofotométrica, se calcula el valor de *cut-off* a partir de las densidades ópticas (OD) de los controles negativos, siguiendo la fórmula: $cut-off = OD \text{ promedio de los controles negativos} + 0,100$. Una muestra se considera NO REACTIVA si su OD es inferior al valor del *cut-off*, y se considera REACTIVA si su OD es igual o superior a dicho valor.

5 Resultados

5.1 Estudio con animales de producción y hospederos silvestres.

Durante el tiempo del estudio, se visitaron 18 casas que se encuentran ubicadas en 9 veredas entre los municipios de Soatá y Tipacoque. En 16 de estas casas se contaba con corrales de cría para cabras, camuros y vacas en donde los propietarios permitieron la toma de muestras de sangre en estos animales. El muestreo con trampas Tomahawk® resultó en la captura de 5 zarigüeyas (*Didelphis marsupialis*), las cuales después del procedimiento de toma de muestra de sangre, fueron liberadas en su hábitat original. En la tabla 1 se muestra toda la información detallada.

| Casa | Municipio | Vereda | N° de cabras | N° de camuros | N° de vacas | N° de hospederos silvestres |
|-------|-----------|--------------|--------------|---------------|-------------|-----------------------------|
| 1 | Soatá | Jabonera | | 3 | | 2 |
| 3 | Soatá | Jabonera | 1 | 4 | | |
| 4 | Soatá | Jabonera | 2 | | | |
| 5 | Soatá | Chorrera | 2 | | | |
| 6 | Soatá | Llano Grande | 2 | | | |
| 7 | Tipacoque | Ovachia | 7 | | | |
| 8 | Tipacoque | Bavatá | 3 | | | 2 |
| 9 | Soatá | Costa | 4 | 4 | | |
| 10 | Soatá | Costa | 3 | | | 1 |
| 11 | Soatá | Laguna | 7 | | | |
| 12 | Soatá | Laguna | 7 | | | |
| 13 | Soatá | Laguna | | | 1 | |
| 14 | Soatá | Espinal | 7 | | | |
| 15 | Tipacoque | Ovachia | 5 | | 2 | |
| 16 | Tipacoque | Ovachia | 5 | | | |
| 18 | Tipacoque | Cañabravo | | | 1 | |
| Total | | | 55 | 11 | 4 | 5 |

Tabla 1. Número de animales de producción y hospederos silvestres muestreados en casas visitadas en las zonas rurales de los municipios de Soatá y Tipacoque.

Enfocándose en las cabras y camuros, que fueron los animales con el mayor número de individuos muestreados, se observa que la cantidad de muestras obtenidas varía entre las veredas, lo que indica una distribución no uniforme. De las veredas con mayor cantidad de muestras, Ovachia destaca como la localidad con un mayor número de muestras recolectadas con 17 muestras, que equivale al 26% del total. Le sigue Laguna, con 14 muestras (21%), y en tercer lugar Costa, que cuenta con 11 muestras (17%). Estas tres veredas concentran la mayor parte de las muestras de sangre recolectadas (Fig.6).

Por otro lado, las localidades con menor cantidad de muestras incluyen a Chorrera y Llano Grande, ambas con solo 2 muestras, representando el 3% cada una. Bavatá también tiene un bajo número de muestras, con 3, lo que equivale al 4%. Las localidades con proporciones intermedias son Jabonera, con 10 muestras (15%), y Espinal, con 7 muestras (11%) (Fig.6).

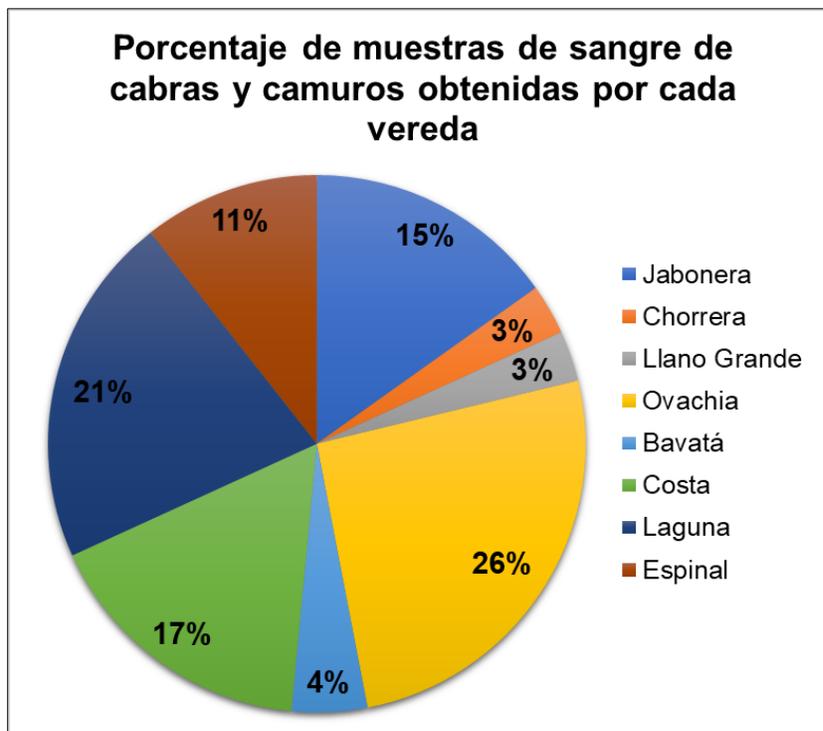


Fig. 6. Porcentaje de cabras y camuros muestreadas por vereda en los municipios de Soatá y Tipacoque.

5.2 Hemocultivos con animales de producción y hospederos silvestres.

Tanto a los individuos capturados con trampas Tomahawk® como a los animales de producción (cabras, camuros y vacas), se les tomó muestra de sangre por punción venosa de cola (zarigüeyas y vacas), y venopunción yugular (cabras y camuros) para hemocultivos. Después de 3 meses de seguimiento, en los hemocultivos realizados con las muestras de los hospederos silvestres, 4 de los 5 individuos capturados mostraron ser positivos a hemoflagelados. Mientras que, en los hemocultivos realizados de animales de producción, todos resultaron negativos (véase tabla 2). Posteriormente, las muestras con hemoflagelados se les realizó PCR, confirmando que las zarigüeyas son positivas a infección por *T. cruzi*.

5.3 Detección molecular de infección por *T. cruzi*.

5.3.1 Animales de producción.

En las cabras y camuros muestreados, se analizaron 66 individuos (55 cabras y 11 camuros) distribuidos en catorce casas, mientras que, para las vacas, se analizaron las muestras provenientes de 4 individuos pertenecientes a tres casas, para detectar infección por *T. cruzi* mediante dos métodos de PCR utilizando el marcador ADN satélite: convencional y en tiempo real. La PCR identificó 52 cabras y 10 camuros infectados en las catorce casas visitadas (tabla 2 y Fig.7). En el caso de las vacas, se identificaron infecciones en los 4 animales evaluados (tabla 2 y Fig.7). Los resultados muestran una frecuencia casi total del parásito en esta población de animales destinada a actividades agropecuarias.

5.3.2 Hospederos silvestres.

Los resultados del análisis para infección molecular de la presencia de ADN de *T. cruzi* en las muestras de ADN extraída de sangre total (5) y cuatro hemocultivos positivos, mostraron la presencia de *T. cruzi* en los 5 individuos capturados de la especie *Didelphis marsupialis* (véase tabla 2).

| Mamíferos | N° de muestras | Positivo para PCR | Positivo para hemocultivo |
|------------------------------|----------------|-------------------|---------------------------|
| <i>Capra aegagrus hircus</i> | 55 | 52 (94,5%) | |
| <i>Ovis aries</i> | 11 | 10 (91%) | |
| <i>Bos taurus</i> | 4 | 4 (100%) | |
| <i>Didelphis marsupialis</i> | 5 | 5 (100%) | 4 |

Tabla 2. Infección por *T. cruzi* en animales de producción y hospederos silvestres.

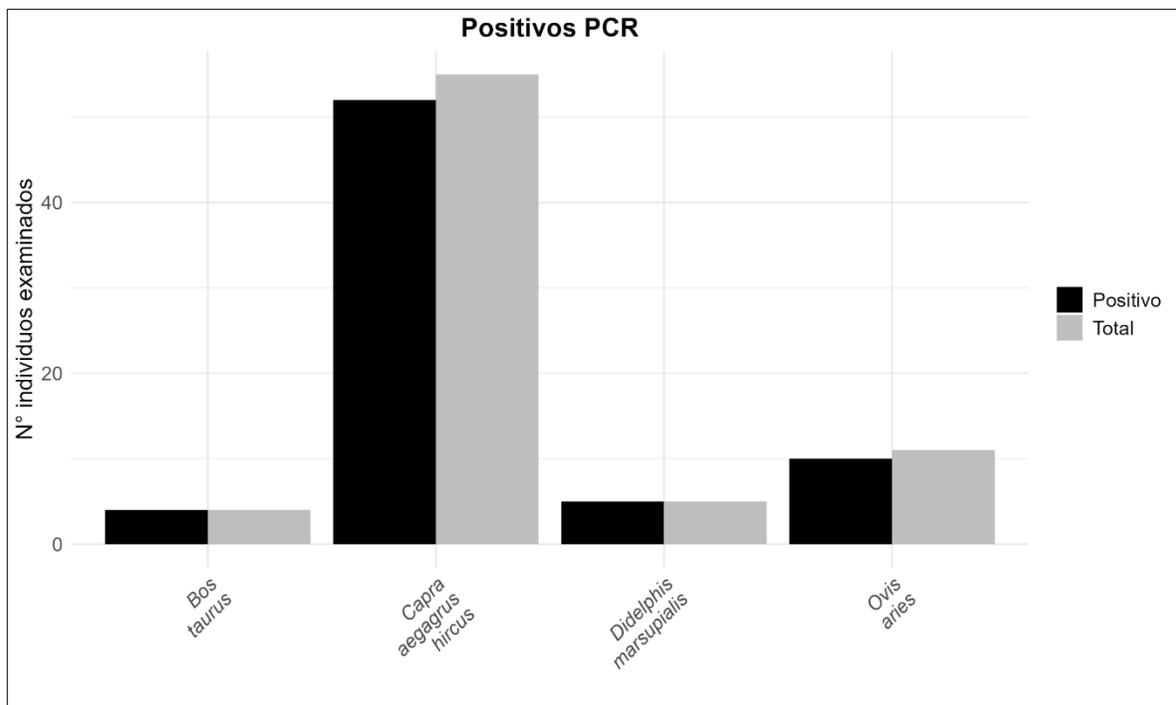


Fig. 7. Infección por *T. cruzi* en animales de producción y hospederos y silvestres en veredas de Soatá y Tipacoque.

5.4 Trabajo entomológico.

Un total de 53 *Triatoma dimidiata* fueron recolectados de los cuales 42 corresponden a adultos y 11 a ninfas (fig.8). Se encontró que este vector habita principalmente en ambientes

intradomiciliarios (48/53) y unos pocos fueron encontrados en el peridomicilio (Fig.10A). La mayor parte de ellos (31/53) fueron capturados mediante una búsqueda activa realizada por el personal técnico durante visitas efectuadas en las veredas seleccionadas en los meses de enero y julio de 2023, y en febrero y junio de 2024, mientras que el resto fueron recolectados por la comunidad y entregados en los puntos de recolección de triatominos establecidos en la zona urbana del municipio de Soatá (Fig.10B). Para describir la distribución de *Triatoma dimidiata* en el área de estudio, se hizo una gráfica que muestra el número de insectos recolectados según el sitio de captura (intradomicilio y peridomicilio), método de captura (búsqueda activa y pasiva), municipio (Soatá y Tipacoque) y zona (rural y urbana). Con esto, se determinó que Soatá es el municipio con más individuos recolectados (46/7) (Fig. 10C) y que en la zona rural de ambos municipios se pudieron recolectar un mayor número de insectos (38/53) y una menor cantidad en la zona urbana (Fig. 10D).

Referente a la cantidad de insectos recolectados por localidad, se observa que Jabonera es la localidad con el mayor número de individuos de *T. dimidiata*, acumulando un total de 23 insectos. Le sigue la Zona Urbana de Soatá con 15 insectos, todos recolectados por la comunidad y llevados al punto de recolección de triatominos. Localidades como Espinal, Cañabravo y Costa muestran cantidades con 6, 5 y 3 insectos recolectados, respectivamente. Por último, la localidad de Ovachia registra el menor número de insectos recolectados, con solo 1 individuo (Fig. 11).

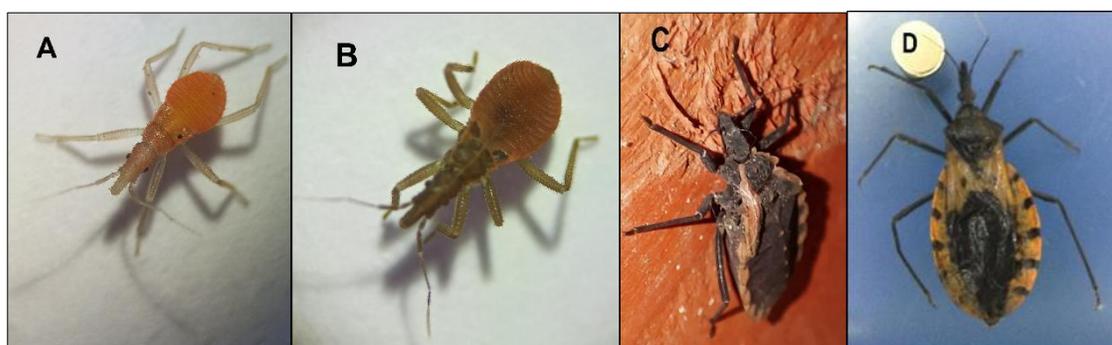


Fig. 8. Ninfas y adultos de *T. dimidiata*. A, B y C corresponden a estadios ninfales (N1, N2, N4).
D: adulto.



Fig. 9. Viviendas visitadas en veredas de Soatá y Tipacoque.

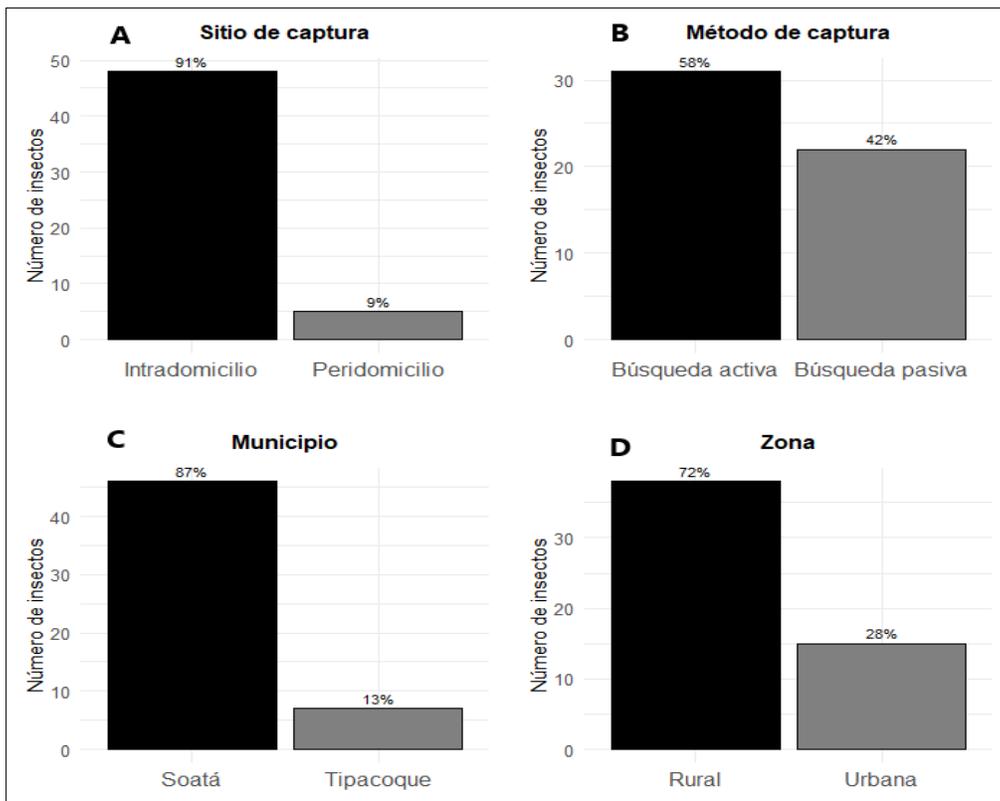


Fig. 10. Distribución de *Triatoma dimidiata* en el área de estudio: (A) sitio de captura, (B) método de captura, (C) municipio y (D) zona.

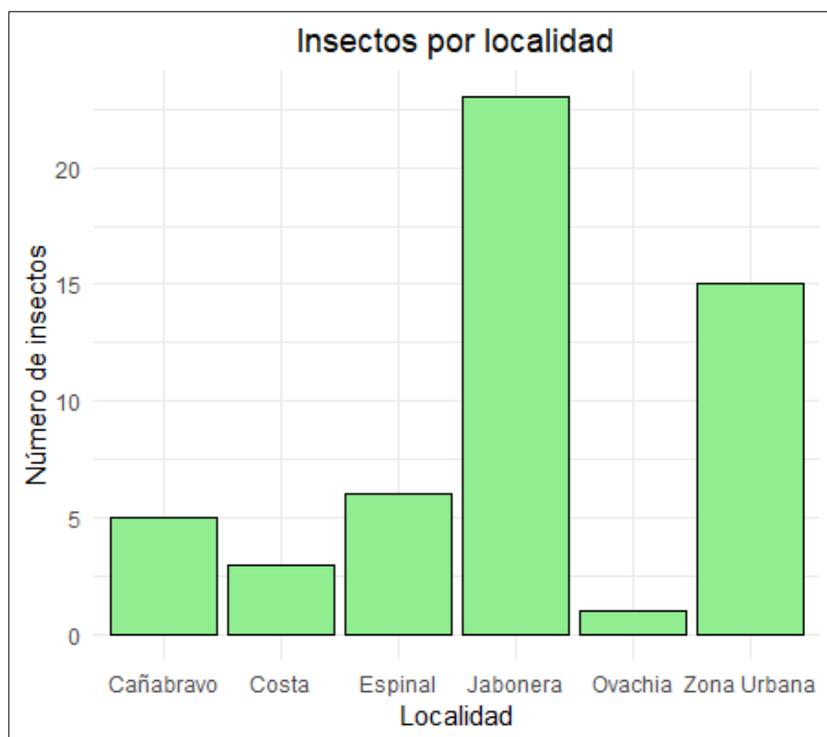


Fig. 11. Número de insectos recolectados en zonas rurales de Soatá y Tipacoque y zona urbana de Soatá.

5.5 Infección natural con *T. cruzi* en los triatominos.

La amplificación del ADN satélite con PCR convencional (Fig.12) y qPCR, permitió encontrar una infección natural del 92% (49/53) en los triatominos recolectados en las seis localidades de los municipios de Soatá y Tipacoque con porcentajes de infección que varían según la zona (véase tabla 3).

La localidad de Jabonera, con el mayor número de triatominos analizados presentó un porcentaje de infección del 96%. De manera similar, en Espinal, los 6 triatominos recolectados resultaron positivos, lo que equivale a una frecuencia del 100%. Este mismo porcentaje de infección se observó en localidades como Ovachia y Cañabravo, aunque con un menor número de triatominos analizados (1 y 5). Mientras que, en Costa, el porcentaje de infección alcanzado es del 67% y en la Zona Urbana, donde se analizaron 15 triatominos, el porcentaje de infección fue del 87%.

En términos del sitio de captura, la mayoría de los triatominos fueron recolectados en áreas intradomiciliarias, donde se registraron porcentajes de infección altos en casi todas las localidades. Sin embargo, en Cañabravo, los triatominos fueron recolectados exclusivamente en áreas peridomiciliarias y presentaron un 100% de infección.

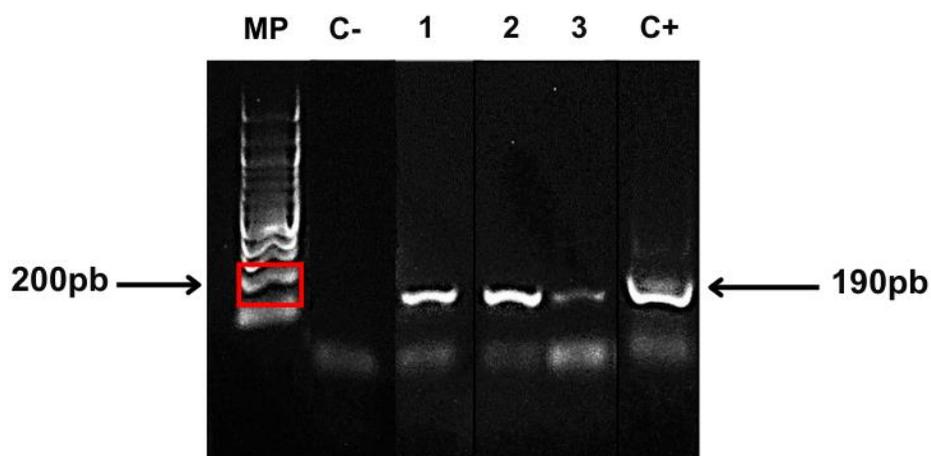


Fig. 12. Producto de la amplificación por PCR de la región satélite de *T. cruzi* de muestras de heces de triatominos.

MP: marcador de peso molecular de 100pb, C-: control negativo (muestra sin ADN), 1, 2 y 3: muestras positivas de *Triatoma dimidiata* para *T. cruzi*, C+: control positivo (ADN proveniente de epimastigotes cultivados).

A las muestras que resultaron negativas, se les realizó una prueba de inhibición utilizando una muestra de ADN de un control positivo para comprobar la validez de la PCR.

| Localidad | Total de triatominos analizados | Número de infectados | Porcentaje de infección (%) | Lugar de Captura |
|-------------|---------------------------------|----------------------|-----------------------------|------------------|
| Jabonera | 23 | 22 | 96 | Intradomicilio |
| Costa | 3 | 2 | 67 | Intradomicilio |
| Espinal | 6 | 6 | 100 | Intradomicilio |
| Ovachia | 1 | 1 | 100 | Intradomicilio |
| Cañabravo | 5 | 5 | 100 | Peridomicilio |
| Zona Urbana | 15 | 13 | 87 | Intradomicilio |
| Total | 53 | 49 | 92 | |

Tabla 3. Porcentaje de infección natural con *T. cruzi* en los triatominos recolectados en cada localidad entre intradomicilios y peridomicilios.

5.6 Fuentes de alimentación de *Triatoma dimidiata*.

De 36 muestras de ADN extraídas de heces de triatominos, en 22 de ellas se pudo obtener la amplificación por PCR del gen 12S. De estas 22, 19 lograron ser identificadas mediante secuenciación de Sanger confirmando la gama de hospederos de los que *T. dimidiata* puede alimentarse.

Al haber comparado las secuencias ensambladas con secuencias disponibles en la base de datos GenBank utilizando BLASTN, se encontraron 10 especies hospedadoras asociadas a los triatominos, los cuales fueron el gato (*Felis catus familiaris*), quien constituye la principal fuente de ingesta, seguido de animales de producción como el camuro (*Ovis aries*) y la vaca (*Bos taurus*). Otros grupos taxonómicos relevantes incluyen al humano (*Homo sapiens*) y una especie del infra orden Caviomorpha, que durante la búsqueda en GenBank, no fue posible determinar con exactitud qué especie era. En los otros grupos identificados incluyen a la cabra (*Capra hircus*), aves como la gallina (*Gallus gallus*), animales domésticos como el perro (*Canis lupus familiaris*) y una especie perteneciente al orden Squamata, que al igual que sucedió con el caviomorfo, no se pudo establecer de qué especie se trataba. En el siguiente gráfico de barras se representa la abundancia relativa (%)

de los diferentes grupos taxonómicos identificados como fuentes de alimentación del vector (Fig.13).

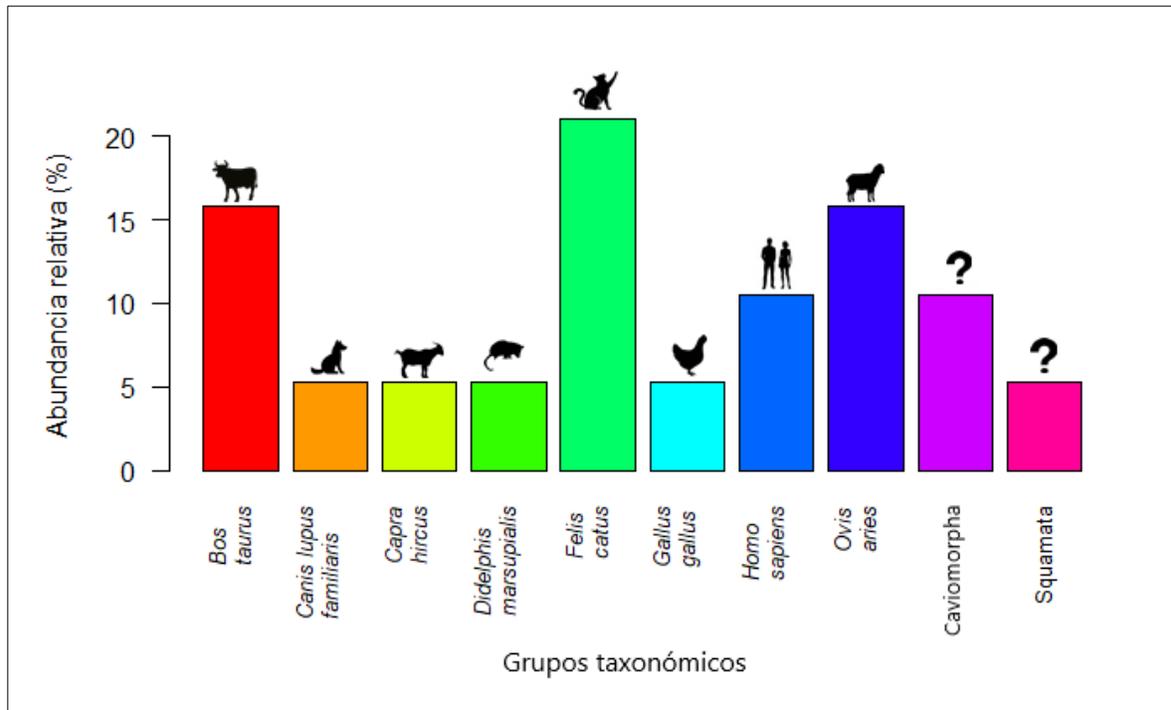


Fig. 13. Fuentes de alimentación de *T. dimidiata*. Se muestra la abundancia relativa (%) de las diferentes fuentes de alimentación. Los grupos taxonómicos incluyen animales domésticos (*Bos taurus*, *Canis lupus familiaris*, *Capra hircus*, *Felis catus*, *Gallus gallus*, *Ovis aries*), humanos (*Homo sapiens*), y especies silvestres (*Didelphis marsupialis*, Caviomorpha, Squamata).

5.7 Estudios con la población humana.

Un total de 100 personas fueron muestreadas en 6 veredas de los municipios de Soatá y Tipacoque así como en la zona urbana de Soatá. En la siguiente tabla se muestra como fue la distribución de las personas participantes en el estudio.

| Municipio | Localidad | N° personas | Positivo | Negativo |
|--------------|-------------|-------------|----------|----------|
| Soatá | Jabonera | 31 | 5 | 26 |
| | Chorrera | 9 | 1 | 8 |
| | Costa | 8 | 0 | 8 |
| | Laguna | 12 | 1 | 11 |
| | Espinal | 1 | 0 | 1 |
| | Zona urbana | 35 | 1 | 34 |
| Tipacoque | Ovachia | 4 | 0 | 4 |
| Total | | 100 | 8 | 92 |

Tabla 4. Número de personas tamizadas por localidad.

De las 100 muestras de suero analizadas pertenecientes tanto a personas adultas como a menores de edad que residen en estos municipios, 8 personas se detectaron positivas para infección por *T. cruzi* según los resultados de ambas pruebas diagnósticas. Lo que representa una frecuencia de 8% en la población muestreada, distribuidas por localidad de la siguiente manera: Jabonera (5%), Chorrera (1%), Laguna (1%) y zona urbana (1%). De acuerdo a estos resultados, la vereda Jabonera del municipio de Soatá es la localidad donde más se reportó personas positivas infectadas con *T. cruzi*, con un total de 31 personas a las que se les realizaron pruebas diagnósticas, seguido de las localidades de Chorrera, Laguna y la Zona urbana de Soatá con una sola persona positiva por cada una.

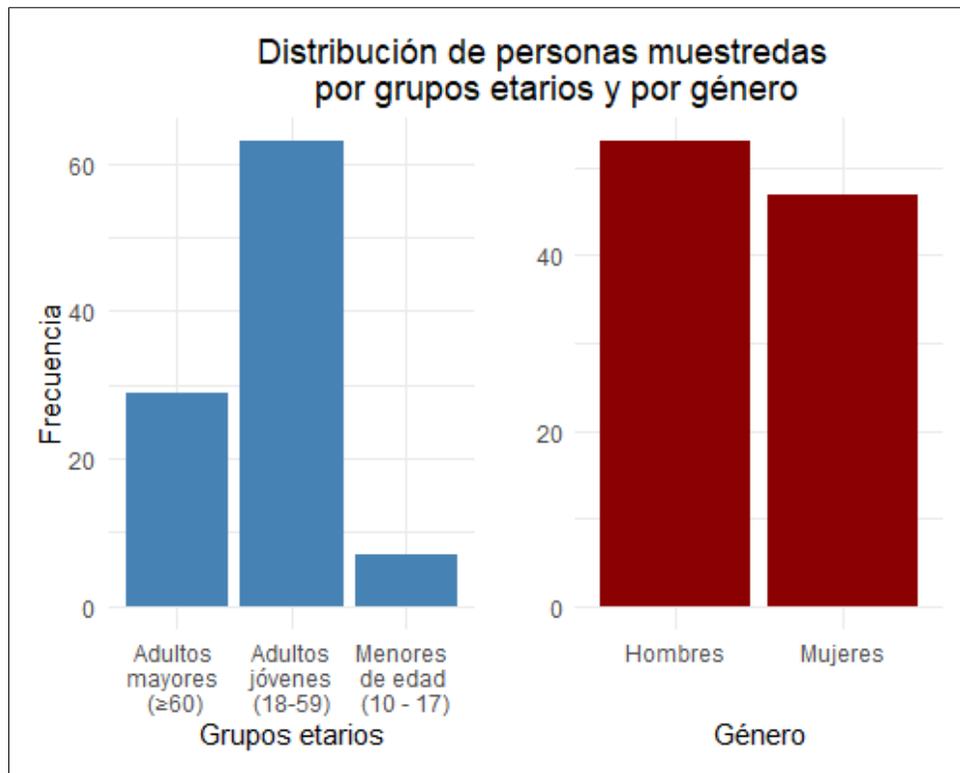


Fig. 14. Distribuciones de personas muestreadas por grupos etarios y por género.

Con 99 de las personas muestreadas, se pudo obtener información de su edad y hacer una clasificación por grupos etarios: adultos jóvenes, adultos mayores y menores de edad. El primer grupo denominado adultos jóvenes abarcó a individuos con edades entre los 18 a 59 años, considerados población en edad productiva. En el segundo grupo se incluyeron a los participantes con una edad igual o superior a los 60 años, a partir de la cual se consideran como adultos mayores de acuerdo a los establecido por la ley colombiana. El tercer grupo comprende a niños y adolescentes denominados como población menor de edad, teniendo en cuenta lo estipulado en el código de infancia y adolescencia del Instituto Colombiano de Bienestar Familiar, en donde se especifica que las personas con edades entre los 0 y 17 años de edad se categorizan como menores edad, pero para este trabajo de investigación se menciona a partir de los 10 años porque fue la mínima edad de las personas partícipes en el estudio.

En la siguiente gráfica se tiene que la mayoría de las personas que fueron sometidas a pruebas serológicas corresponden a personas que oscilan entre los 18 y 59 años de edad, quienes

componen el grupo de adultos jóvenes. Lo que representa el 63% de la población estudiada. Seguido de los adultos mayores con un 29% y de los menores de edad con un 7% (Fig.14).

La población estudiada estuvo equilibrada en términos de género, donde el 53% se componen de hombres y el 47% mujeres (Fig.14).

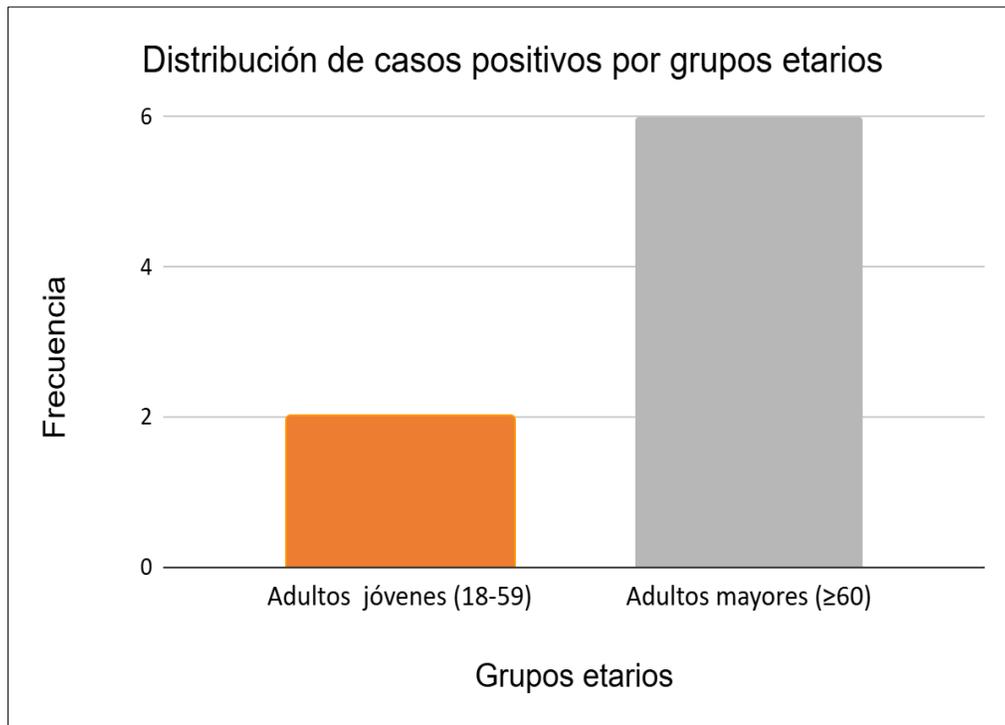


Fig. 15. Distribuciones de casos positivos para Chagas según grupos etarios. En los dos grupos que presentaron casos positivos están los adultos jóvenes y los adultos mayores.

De las 8 personas que resultaron positivas para infección por *T. cruzi*, se observa que la mayoría de los casos positivos se concentran en adultos mayores (6 individuos), representando una mayor frecuencia en este grupo que en los adultos jóvenes, quienes solamente presentaron 2 personas positivas con edades superiores a los 40 años. No se reportaron personas positivas en menores de 10 a 17 años (Fig.15).

5.8 Distribución espacial de frecuencias de infección por *T. cruzi* en insectos, humanos, animales de producción y hospederos silvestres.

El análisis realizado arrojó como resultado un gráfico que muestra la variabilidad en las frecuencias de infección según las localidades y las especies evaluadas (insectos, humanos, cabras, camuros, vacas y zarigüeyas) (Fig.16). Cada localidad muestra una distribución particular de estos grupos, lo que puede reflejar variaciones en las dinámicas de infección. Es importante aclarar que la ausencia de algunas especies en ciertas localidades (excepto en la zona urbana) no implica necesariamente que dichas especies no estén presentes en estas zonas, sino que, durante la recolección de datos, no se registraron especímenes en las casas visitadas en algunas veredas.

En Cañabravo, los insectos presentan una infección natural superior al 80%, seguido de las vacas con una frecuencia menor del 20%. En Bavatá, las cabras y las zarigüeyas son animales que están siendo infectados en similar medida con frecuencias de infección del 50% cada uno. En Ovachia, las cabras predominan con una frecuencia superior al 80%, seguidas por las vacas, que tienen una representación moderada de alrededor de 10% y de los insectos que es inferior del 5%. Mientras que, en la Zona Urbana, los insectos tienen una frecuencia destacada, cercana al 80%, lo que demuestra los altos niveles de infección por *T. cruzi* en individuos de *T. dimidiata* que habita dentro del casco urbano. Un panorama distinto para los humanos, quienes tienen una baja representación, con menos del 5% en casos positivos de infección.

En Costa, las cabras presentan una frecuencia superior al 50%, seguidos por los camuros, con una frecuencia de infección cercana al 40%. Las zarigüeyas están representadas con valores más bajos del 10%. En otras localidades como Llano Grande, las cabras son el único grupo representado, con una frecuencia dominante del 100%. En Chorrera, las frecuencias de humanos y cabras son similares, ambas rondando el 50% de los casos. En Espinal, las Cabras presentaron una frecuencia cercana al 50%, seguidos por los insectos con una representación superior del 40%. Por último, en Jabonera, los insectos resultan ser los más notables, con una frecuencia de aproximadamente el 60%, siendo el grupo con una alta representación en esta zona. Le siguen los humanos, quienes presentan una frecuencia cercana al 20%, lo que los posiciona como el segundo grupo más representado en esta localidad. Las cabras y los camuros tienen una representación

similar, ambas categorías con frecuencias aproximadas al 15%. Por último, las zarigüeyas presentaron una frecuencia de casi el 10% siendo el grupo con menores registros.

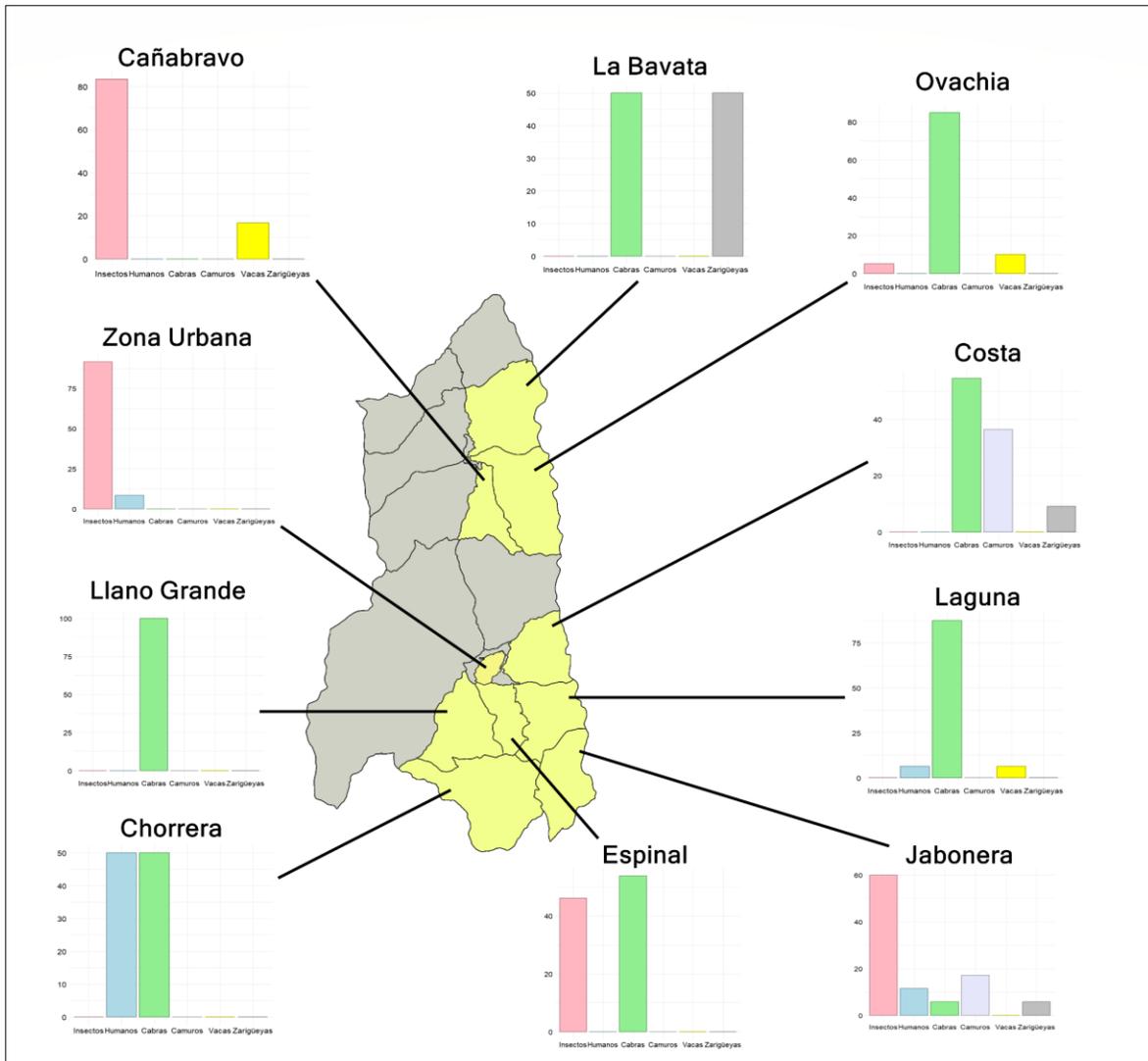


Fig 16. Distribución espacial de frecuencias de infección por *T. cruzi* en insectos, humanos, animales domésticos y hospederos silvestres en diferentes localidades. Se muestra las frecuencias de infección registradas en diferentes localidades para las categorías: insectos (rosado), humanos (azul), cabras (verde), camuros (lavanda), vacas (amarillo) y zangüeyas (gris). Los programas utilizados para la creación de los gráficos de frecuencia y edición del mapa fueron R studio versión 4.2.1 y Qgis versión 3.38.3. Las capas de ubicación utilizadas fueron las de veredas y municipios de Colombia, descargadas de la página web del Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE) (<https://geoportal.dane.gov.co/servicios/descarga-y-metadatos/datos-geoestadisticos/>).

6 Discusión

6.1 El papel de las cabras, camuros y vacas como potenciales reservorios de *T. cruzi*.

Este estudio destaca el interés de profundizar sobre el papel de los animales de producción como reservorios de *Trypanosoma cruzi* en áreas rurales. Nuestros hallazgos, muestran una alta tasa de infección por *T. cruzi* en cabras, camuros y vacas, representan uno de los pocos análisis realizados mediante métodos moleculares en estos mamíferos. Hasta el momento, no se han llevado a cabo estudios similares que evalúen continuamente la infección en estos animales mediante pruebas PCR, lo que da un aporte significativo al entendimiento del rol de los mamíferos de producción en un escenario donde un vector primario, como *R. prolixus* fue eliminado y su lugar ocupado por *T. dimidiata*.

Una aparente incongruencia en los resultados obtenidos es la ausencia de hemocultivos positivos en animales que fueron detectados como positivos para *Trypanosoma cruzi* mediante PCR. Este fenómeno puede explicarse a partir de varias hipótesis planteadas por Jansen & Roque (2010). En primer lugar, es posible que el parásito no sea viable en el hospedador al momento de la toma de muestra, lo que impediría su desarrollo en el medio de cultivo. Otra explicación podría ser la presencia de fragmentos de ADN del parásito en lugar del parásito completo, lo que daría un resultado positivo en las pruebas moleculares, pero no garantiza el crecimiento en medios enriquecidos como el NNN (Novy-Mc Neal- Nicole) enriquecido con LIT (Liver Infusion Tryptosa). Finalmente, otros investigadores en el Chaco Argentino relacionaron un número mínimo de TcI circulantes en torrente sanguíneo para garantizar el desarrollo de un hemocultivo, lo que limita la sensibilidad del hemocultivo frente a cargas parasitarias bajas (Enriquez et al., 2014).

En años anteriores, diversos autores han planteado que el número limitado de estudios sobre *T. cruzi* en cabras, propone que el papel desempeñado por estos mamíferos en el ciclo de transmisión de *T. cruzi* es principalmente secundario a pesar de su alta exposición a la infección (Noireau et al., 2009). Con este hallazgo se sugiere el desarrollo de investigaciones futuras para esclarecer las razones de la discordancia presentada y mejorar los métodos de detección y cultivo.

Comprender estas limitaciones es importante para mejorar las estrategias de diagnóstico y evaluación de la transmisibilidad de *T. cruzi* en animales hospederos en entornos rurales.

En el caso de los camuros, muy poco se ha estudiado el rol de estos en la eco-epidemiología de la enfermedad de Chagas. Sin embargo, su cercanía a las ovejas domésticas, sugieren que podrían tener un papel menos significativo que las cabras como potenciales reservorios de *T. cruzi*. No obstante, esta especie puede contribuir al crecimiento de la infestación debido al aumento total de la población de triatomíneos y así estos invadir las instalaciones domésticas (Gürtler y Cardinal, 2015). Los camuros al tratarse de una especie de ovino adaptado a las condiciones ambientales de Colombia, con una diversidad genética diferente a las razas de ovinos europeos (Vivas et al., 2020; Ortiz et al., 2021), se vuelve esencial seguir investigando sobre su rol en la transmisión de *T. cruzi* dado los descubrimientos de los altos niveles de infección y fuentes de ingesta encontrados de *T. dimidiata*.

En cuanto a las vacas, estudios iniciales sugirieron un papel poco relevante como hospedador de *T. cruzi* (Gürtler y Cardinal, 2015). Sin embargo, estudios recientes han mostrado que las vacas son una fuente frecuente de ingestas para *T. dimidiata* para poblaciones de Colombia (Velásquez et al., 2022) y en México (Moo-Millan et al., 2019). Si bien, en esta investigación solo se evaluaron 4 vacas, se requieren más estudios que evidencien si el papel es solo de fuente de ingestas o si los niveles de infección y la biomasa de esta especie, es suficiente para considerarse un reservorio de *T* (Jansen & Roque, 2010)

La cercanía de las cabras a las viviendas humanas, sumada a las prácticas artesanales de manipulación de productos cárnicos, podría aumentar el riesgo de transmisión accidental del parásito. Por ejemplo, en Chile, un estudio realizado en la región de Coquimbo reveló que más de la mitad de las cabras estudiadas estaban infectadas con *T. cruzi*, y se concluyó que los corrales de cabras representan una importante fuente de triatomíneos que invaden los hábitats domésticos, lo que aumenta el riesgo de transmisión del parásito tanto a los animales como a los humanos (Valenzuela, 2017). Similarmente, en la provincia de Mendoza, Argentina, las altas tasas de infección en cabras confirmaron la persistencia del parásito en áreas rurales, aunque la frecuencia de infección no estaba necesariamente asociada con el tipo de manejo de los animales o con factores

ambientales (Muñoz et al., 2020). Sin embargo, la alta proporción de cabras infectadas en ambas zonas establecen una constante circulación del parásito y una considerable presencia de vectores en el área, lo que se toma como un riesgo elevado de transmisión a los cabreros y a la comunidad en general.

El hecho de que los hemocultivos no hayan mostrado resultados positivos podría estar relacionado con la naturaleza de la infección en estos animales. En muchos casos, las parasitemias en cabras pueden ser lo suficientemente bajas o intermitentes como para no ser detectadas mediante cultivos tradicionales, pero aun así ser detectables mediante técnicas de diagnóstico más sensibles como la PCR en tiempo real (Fernandes et al., 1994). Aunque investigaciones previas sobre el papel de las cabras basadas en métodos serológicos y moleculares han sugerido que estas especies tienen un rol limitado en la transmisión de *Trypanosoma cruzi*, nuestros resultados muestran una perspectiva diferente. La frecuencia de infección en cabras fue del 94,5%, mientras que la infección en *Triatoma dimidiata* asociada a estas áreas alcanzó el 92%. Estos hallazgos indican que el papel de las cabras pudo haber sido subestimado, especialmente al considerar su convivencia cercana con vectores infectados en entornos rurales.

Los resultados del muestreo realizado en las 9 veredas de los municipios de Soatá y Tipacoque evidencian la relevancia de los animales de producción en la dinámica de transmisión de *T. cruzi*. Su papel como reservorios potenciales es un tema que aún requiere de investigación y que representa un desafío adicional para los programas de control, especialmente en estas comunidades donde la interacción entre humanos, vectores y animales es habitual.

6.2 Hospederos silvestres.

La infección confirmada en los individuos capturados de *Didelphis marsupialis* mediante métodos parasitológicos y moleculares, corrobora su papel como reservorio principal de *T. cruzi*. Años de investigación han demostrado que las especies del género *Didelphis* pueden ser excelentes reservorios de *T. cruzi*, ya que son capaces de mantener infecciones prolongadas y niveles elevados de parasitemia. Su comportamiento sinantrópico los posiciona como reservorios clave en hábitats peridomésticos, domésticos y áreas alteradas por el ser humano. Son animales bastante resistentes

en cuanto a hábitat y alimentación y se adaptan fácilmente a las áreas peridomésticas, alimentándose de restos de comida humana. Aunque, en ecosistemas silvestres intactos, otras especies tienden a asumir el rol de reservorio. Su notable capacidad de adaptarse a entornos humanos convierte a las especies de este género en indicadores efectivos de perturbación ambiental (Olifiers et al., 2005).

La especie encontrada en este estudio, *Didelphis marsupialis* o zarigüeya común, es un marsupial didelfimorfo que se distribuye desde el sur de México, América Central y la mayor parte de América del Sur, llegando hasta el norte de Argentina y Uruguay. Se cataloga como un animal sinantrópico reconocido, que a medida que se acerca a los asentamientos humanos, puede convertirse en un puente entre los ciclos de transmisión silvestre y doméstico (Herrera et al., 2005; Austad SN., 1998) o jugar un papel importante en la amplificación del ciclo enzoótico de *T. cruzi* (Roque et al., 2008; Rocha et al., 2013). Epidemiológicamente, la zarigüeya común se destaca por su capacidad de actuar como reservorio y vector de *T. cruzi*. (Deane et al., 1984; Urdaneta-Morales y Nironi, 1996).

En Colombia, se tienen reportes desde la región del Caribe colombiano, en donde se realizó un estudio ecoepidemiológico de la enfermedad de Chagas que incluyó evaluar la prevalencia de infección de mamíferos sinantrópicos como *Didelphis marsupialis*, el cual se identificó como un reservorio clave en los ciclos de transmisión de *Trypanosoma cruzi* que conecta los ciclos zoonóticos peridomésticos y silvestres, desempeñando un papel central en la persistencia del parásito. Además, se detectó infección por *T. cruzi* en las glándulas odoríferas de esta marsupial, subrayando su potencial para contaminar el entorno peridoméstico (Cantillo-Barraza et al., 2015).

También se han hecho otros reportes en años posteriores en el noroccidente de Colombia, específicamente en el área rural de un municipio de Antioquia. Allí se ha encontrado que *Didelphis marsupialis* es nuevamente destacado como un actor epidemiológico importante en la transmisión de *T. cruzi*. En este estudio se reporta una prevalencia del 59,1% de infección según pruebas moleculares y del 61,1% mediante serología. Fue el mamífero silvestre más frecuente en el área, representando el 70,9% de las capturas y todas las zarigüeyas infectadas portaban el genotipo TcI. La investigación también destacó la capacidad de esta especie para actuar como puente entre los

ambientes domésticos y silvestres, y su comportamiento sinantrópico incrementa el riesgo de transmisión a través de la contaminación de alimentos humanos (Cantillo-Barraza et al., 2020).

En los municipios de Soatá y Tipacoque, la coexistencia de estos reservorios con animales domésticos (perros y gatos), animales de producción (cabras, camuros y vacas) y vectores como *Triatoma dimidiata* en hábitats peridomésticos en zonas rurales podría reforzar la complejidad del ciclo de transmisión en el área de estudio. Esta interacción es crucial para el ciclo de vida del parásito y su propagación en dicha área.

6.3 Ecología de *T. dimidiata* en la zona de estudio.

Tanto en la búsqueda activa como pasiva, *Triatoma dimidiata* fue la especie que frecuentemente se encontraba en la zona rural y urbana de los municipios de Soatá y Tipacoque, hallazgos que se relacionan con estudios previos que destacan a este vector como la especie más común y ampliamente distribuida en Boyacá (491/670), representando el 73,2% de los triatominos recolectados. Además de esto, se identificó que Soatá y Tipacoque son los municipios más afectados, presentando índices de infestación del 18,3% y 2,6% (Cantillo-Barraza et al., 2021).

La mayor presencia del vector en áreas intradomiciliarias comparadas con las peridomiciliarias, como se observó en Socotá, otro municipio certificado libre de *R. prolixus* intradoméstico (Cantillo-Barraza et al., 2020), señala que las interacciones entre los hábitats intradomésticos y peridomésticos ejercen un papel importante en la dinámica de transmisión del parásito (Velásquez et al., 2022). La fuerte presencia intradomiciliaria observada, refleja su proceso de domiciliación, consistente con lo reportado en la literatura sobre su notable desplazamiento hacia entornos domésticos y peridomésticos en las regiones de Boyacá y Santander (Quirós-Gómez et al., 2017). Este comportamiento podría estar relacionado con la abundancia de animales que viven en estas áreas, lo que facilita el ciclo de transmisión del parásito, como lo demuestran las muestras de sangre de animales domésticos y hospederos silvestres hallados en el contenido estomacal de estos insectos (Zeledón R et al., 1973). Esto sugiere que, *Triatoma dimidiata* no solo actúa como un vector importante en la transmisión de *T. cruzi*, sino que también facilita la reinfestación de viviendas, creando un ciclo persistente de transmisión.

Analizando la cantidad de insectos recolectados por vereda y los de la zona urbana, se tuvo que Jabonera es la localidad con el mayor número de individuos de *T. dimidiata* (23), que, de acuerdo a los registros del programa de control de Enfermedades Transmitidas por Vectores, esta es la zona de mayor reporte de *T. dimidiata* e históricamente ha sido la de mayor infestación, tal como se evidencia en esta investigación.

En la Zona urbana todos los insectos recolectados fueron entregados por la comunidad en el punto de recolección de triatomíneos, un resultado que demuestra que la presencia de estos insectos sigue siendo significativa, lo que podría estar relacionado con factores como la disponibilidad de refugios o las condiciones del ambiente urbano. Características eco-epidemiológicas similares han sido reportadas para esta especie en el sur de México y el norte de Belice, lo que favorece a la urbanización de la transmisión de *T. cruzi*, situación que resulta contraria a lo históricamente reportado para especies como *R. prolixus*, un vector asociado a viviendas de bahareque ubicadas en zonas rurales y pequeñas veredas (Dumonteil et al., 2004; Tamay-Segovia et al., 2017; Caranci et al., 2022).

Las localidades que le siguen son Espinal y Cañabravo mostrando cantidades menores de insectos recolectados. En los casos de Costa (3) y Ovachia (1), estos son individuos que fueron capturados mediante búsqueda pasiva y no activa. Si bien, la búsqueda activa por parte del equipo de investigación se realizó en más viviendas en Jabonera y Costa, toda la zona de estudio hace parte de un programa de vigilancia, que ha funcionado de manera ininterrumpida durante los últimos 10 años (Cantillo-Barraza et al., 2020), por tanto, la presencia de triatomíneos en los PRT, nos permite inferir o comparar las diferencias en la abundancia entre las zonas de estudio, lo cual es de gran importancia para la priorización de la vigilancia en el municipio de Soatá.

Por otro lado, los factores socioeconómicos parecen ser determinantes en la dispersión y domiciliación de *T. dimidiata*. En todas las casas que fueron visitadas, gran parte de su construcción se relaciona con el uso de tapias compuesta de materiales como barro en la formación de paredes. Las observaciones realizadas en campo mostraron que las casas donde se encontraron estos insectos tenían estas características arquitectónicas (fig.7). Sin embargo, también es importante destacar

que en estos lugares había presencia de animales, los cuales podrían servir como fuentes de ingesta para los triatominos. Esta disponibilidad de alimentos en el peridomicilio, puede servir de lugar de dispersión de los especímenes recolectados en el interior de las viviendas, tal como se ha publicado previamente para otras especies del género *triatoma* en el país (Cantillo-Barraza et al., 2015).

La acumulación de rocas y madera cerca del hogar también fueron elementos comunes de encontrar. Estudios enfocados en este tema señalan que la probabilidad de encontrar esta especie es significativamente mayor en viviendas con condiciones socioeconómicas deficientes (Bustamante DM et al., 2009; Ventura-García et al., 2013), lo que concuerda con el elevado nivel de infestación domiciliar observada en zonas rurales de Boyacá. Estos eventos facilitan la colonización y el hacinamiento de los triatominos en casas ubicadas en zonas rurales de municipios como Soatá y Tipacoque, incrementando el riesgo de transmisión de *T. cruzi* en estos dos municipios certificados por la OPS.

Con los resultados obtenidos de esta nueva investigación se refuerza la necesidad de una vigilancia activa en ambos municipios en las que se logre controlar la entrada de triatominos a ambientes intradomiciliarios y la necesidad de fortalecer programas alternativos de intervención, como el uso de pinturas con insecticidas de lenta liberación que han sido empleados bajo condiciones de laboratorios y con pilotos en la población de Socotá (Boyacá), con resultados prometedores (Gual et al., 2022).

6.4 Infección natural por *T. cruzi* en los triatominos.

Las pruebas moleculares realizadas en los insectos recolectados, muestran un alto nivel de infección por *T. cruzi* en *Triatoma dimidiata* con tasas de infección de un 92%. Estos hallazgos revelan un alto riesgo de transmisión en municipios certificados como libres de *Rhodnius prolixus* intradoméstico, como Soatá y Tipacoque. Al comparar nuestros resultados con otros estudios, encontramos que las tasas de infección en *T. dimidiata* en nuestro estudio (92%) son mayores que las reportadas por Velásquez-Ortiz et al. (2022) y Cantillo-Barraza et al. (2021). En el Velásquez et al. registraron una tasa de infección total del 70% en varios municipios de Boyacá, mientras que

Cantillo-Barraza et al. reportaron una tasa global del 37,8% en los municipios del departamento incluidos en el estudio y del 27,2% específicamente en el municipio de Socotá.

A nivel internacional, *T. dimidiata* ha demostrado ser un vector importante en varios países de América Latina, como México, Guatemala, Honduras, El Salvador, Costa Rica, Nicaragua, Panamá y Ecuador, donde frecuentemente se reporta en áreas rurales como responsable de la transmisión de la enfermedad de Chagas en la población humana. En Ecuador, un análisis realizado por Wong et al. (2016) mostró una prevalencia del 54% en poblaciones de este insecto, asociada a infecciones por TcIa (25%) y combinaciones TcIa/TcId (75%). Este estudio también evidenció una alta movilidad de los vectores entre hábitats domésticos y peridomésticos, lo que incrementa el riesgo de transmisión.

En México, la variabilidad en las tasas de infección es evidente. En el estado de Yucatán, Reyes-Novelo et al. (2013) reportaron una frecuencia de infección del 21,9%, mayor en adultos (23,9%) que en ninfas (13%), con una distribución uniforme entre ecotopos intra- y peridomiciliarios. Este patrón resalta que el riesgo de transmisión no está limitado al interior de las viviendas humanas, sino que también se extiende a los alrededores.

En comparación con los estudios internacionales, la tasa de infección del 92% encontrada en nuestro estudio es mucho más alta, destacando la importancia de *T. dimidiata* como vector en Boyacá. Aunque no se puede concluir que sea un vector crucial, los datos sugieren que tiene un alto potencial para mantener activa la transmisión de *T. cruzi* en la región.

A pesar de las altas tasas de infección, no se encontró infección en niños durante este estudio, resultado que concuerda con las observaciones realizadas por el programa de certificación y recertificación, que ha señalado que, aunque *T. dimidiata* es un vector importante, su eficacia para transmitir *T. cruzi* a humanos podría ser menor en comparación con *R. prolixus*. Sin embargo, este insecto sigue siendo relevante debido a su potencial de infectar tanto a humanos como a animales de producción, particularmente en áreas donde las interacciones peridomiciliarias son comunes. En este sentido, la alta frecuencia de infección en animales como cabras, camuros y vacas, sugiere que *T. dimidiata* desempeña una función en la transmisión del parásito en estos

mamíferos. Se sospecha que la ruta de infección de estos animales es vectorial, facilitada por la convivencia cercana con triatomíneos en los corrales y establos.

Aunque nuestros resultados no permiten declarar a *T. dimidiata* como un vector primario, los datos demuestran que tiene un gran potencial para reactivar la transmisión de *T. cruzi* en estas áreas debido a sus altos índices de infección, su capacidad para colonizar ecotopos domésticos y peridomésticos, y su alimentación en una variedad de hospederos, incluidos humanos y animales de producción altamente infectados. La combinación de altas tasas de infección, una amplia adaptabilidad ecológica, un comportamiento alimenticio generalista y la asociación con genotipos predominantes de *T. cruzi* convierte a *T. dimidiata* en un vector relevante en la transmisión de la enfermedad de Chagas en la zona de estudio (Quirós-Gómez et al., 2017).

6.5 Fuentes de alimentación de *Triatoma dimidiata*.

El análisis mostró que *T. dimidiata* se alimenta de una amplia variedad de hospedadores, incluyendo animales domésticos (*Felis catus*, *Bos taurus*, *Ovis aries*, *Capra hircus*, *Canis lupus familiaris* y *Gallus gallus*), humanos (*Homo sapiens*), y especies silvestres (Caviomorpha, *Didelphis marsupialis* y Squamata).

Casos particulares como el camuro, que es una raza ovina que se distingue por tener pelo en lugar de lana. Una característica que la hace más adecuada para los climas cálidos y húmedos del país (Bautista, 1977). Es un animal con un alto valor comercial por su carne y que al igual que las cabras, sustentan la economía local en los municipios de Soatá y Tipacoque. Sin embargo, a diferencia de las cabras, son mucho más limitadas las investigaciones que hay sobre esta raza de oveja y su papel en la dinámica de transmisión de *Trypanosoma cruzi*. Lo poco reportado en la literatura va más dirigido a estudios llevados a cabo en la oveja común de lana (Noireau et al., 2009; Jansen y Roque, 2010; Desquenses y de Lana, 2010; Gürtler y Cardinal, 2015). Por lo tanto, esta es una situación que requiere de atención, debido a que fue la especie que junto con la vaca de las que *Triatoma dimidiata* se alimentó con frecuencia después del gato.

Es importante mencionar que la metodología de secuenciación Sanger, la cual permite identificar el perfil más abundante de las fuentes alimenticias del vector, en contraste con tecnologías como Illumina, esta última ofrece un mayor alcance en la detección de diversas fuentes (Velásquez-Ortiz et al., 2022). Este aspecto es crucial para interpretar los resultados, ya que la mayor frecuencia del gato (*Felis catus*) como fuente de ingesta podría deberse a que representa la última fuente de ingesta del insecto en el momento de la captura, y no necesariamente la fuente más común del insecto durante su ciclo de vida.

En el contexto eco-epidemiológico de la zona de estudio, se considera que los animales de producción desempeñan un papel más relevante en la transmisión de *Trypanosoma cruzi*, debido a que estos animales suelen mantenerse atados o estabilizados en corrales, condiciones que facilitan el contacto con los triatomíneos. Además, su abundancia es mayor que la de los gatos y una elevada tasa de infección, así lo sugieren.

Referente a los perfiles de alimentación (Caviomorpha y Squamata) de los que no se pudo determinar con exactitud de qué especies se trataban, el análisis de BLASTN, mostró que para las muestras de ADN obtenidas del contenido intestinal de los triatomíneos examinados, la especie con un mayor porcentaje de identidad era *Hydrochoerus hydrochaeris*, conocidos como chigüiros en varias regiones de Colombia. Sin embargo, la distribución geográfica de esta especie en Colombia, no muestra presencia de este animal en Boyacá, ya que su distribución natural está asociada a regiones cálidas y bajas del país, como los Llanos Orientales, la Orinoquía, y algunas zonas del Magdalena Medio. Así que es posible que se trate de otro caviomorfo con características genéticas similares, cuya distribución esté presente en Boyacá y de la que aún no se tiene información disponible. En el caso de la especie incluida en el orden Squamata, fue aún más complejo identificar cuál podría ser, puesto que los resultados señalaron a una especie de lagarto que es endémico de Argentina. Por lo que se infiere que podría ser otra especie diferente de la que por el momento no se tiene conocimiento.

La alimentación en gatos, camuros y vacas, así como en perros, cabras y gallinas, evidencia la fuerte interacción de este vector con animales domésticos en áreas rurales, lo que aumenta el riesgo de transmisión intradomiciliaria de *Trypanosoma cruzi* (Velásquez et al., 2022). Por otro

lado, la detección de ADN de humanos y especies silvestres demuestra la capacidad de este insecto para mantener tanto ciclos domésticos como silvestres del parásito (Hernández et al., 2016).

Las investigaciones realizadas en el departamento de Boyacá como el de Velásquez et al. (2022), se encontró una alta diversidad en las fuentes de alimentación de *T. dimidiata*. Siendo el humano el más común, seguido de animales de compañía (perros y gatos) y sinantrópicos (zarigüeyas y ratones). Estas características ecológicas muestran su comportamiento generalista y su capacidad para adaptarse a diferentes hospedadores. Sin embargo, el estudio de Velásquez fue enfocado en la parte urbana del municipio de Soatá y Tipacoque, donde perros y gatos son los animales domésticos más comunes, situación muy diferente a la zona rural, donde existe una mayor abundancia de animales de producción como cabras, camuros y vacas, resultando tener un papel importante en el escenario de transmisión en el área rural de ambos municipios.

6.6 Estudios con la población humana.

La frecuencia de infección detectada en humanos de un 8% de las 100 personas a las que se les realizaron pruebas serológicas, indica un nivel de riesgo considerable en las áreas rurales estudiadas con la mayoría de los casos positivos en localidades como Jabonera, en donde se observaron mayores densidades de triatominos y niveles elevados de infección en estos vectores. Esto demuestra que espacialmente hay una agrupación en las mismas zonas de vectores, mamíferos infectados y humanos, lo que se considera un potencial riesgo y una zona a vigilar. Además, las condiciones de las viviendas y el entorno, como construcciones de tapia y la proximidad de corrales de animales, proporcionan refugios ideales para los triatominos y facilitan su interacción con las personas. Esto demuestra una dinámica de transmisión activa de *Trypanosoma cruzi* circulando entre vectores como *T. dimidiata* y mamíferos con un potencial riesgo de infección a los humanos, quienes viven expuestos frecuentemente al parásito tanto adentro como a los alrededores de sus casas (Cantillo-Barraza et al., 2015).

La distribución de los casos positivos muestra que los adultos mayores, es el grupo más frecuentemente infectado, quienes podrían tener un historial más prolongado de exposición acumulativa a los vectores infectados debido a su permanencia en áreas endémicas a lo largo del

tiempo. Esto refleja una dinámica similar a lo reportado en otras investigaciones previas realizadas en otros lugares de Colombia, Venezuela y Brasil (Monroy-Diaz et al., 2018; García-Jordán et al., 2017; Aquino et al., 2020; da Silva et al., 2024).

En un estudio realizado en el municipio de Miraflores, Boyacá, Colombia, los mayores de 41 años representaron el grupo con mayor seropositividad, con una edad promedio de 47 años, y un riesgo cinco veces mayor en comparación con otros grupos etarios, planteando la edad de las personas como un factor determinante en la infección (Monroy-Diaz et al., 2018). Una tendencia que fue respaldada por investigadores en el estado de Sucre, Venezuela, donde se observó un incremento progresivo en la seroprevalencia con la edad, principalmente en personas entre los 61 y 70 años y en mayores de 71 años (García-Jordán et al., 2017).

En el estado Piauí en Brasil, en el municipio de Campinas do Piauí, la mayor prevalencia también se observó en mayores de 61 años, con un 3,93% de los casos positivos en este grupo. De manera similar, en otros dos municipios de este mismo estado, se reportaron que, en comunidades rurales, el 7,8% de los casos positivos corresponden a mayores de 60 años, confirmando el patrón de riesgo acumulativo asociado con la edad (Aquino et al., 2020; da Silva et al., 2024).

Lo mostrado en este estudio en la población humana que reside en la zona urbana y rural de Soatá y Tipacoque, determina el dirigir estrategias de prevención hacia los adultos mayores, quienes representan un grupo vulnerable. Adicionalmente, la distribución de los casos en este estudio se correlaciona con las localidades que presentaron mayores densidades de *Triatoma dimidiata* y altos índices de infección en vectores.

Finalmente, los hallazgos aquí presentados deben interpretarse en el contexto de las limitaciones propias de las zonas rurales, donde factores socioeconómicos, como la construcción de viviendas con materiales precarios, favorecen la domiciliación de triatomíneos. Este panorama demanda una intervención continua y sostenible para reducir los potenciales riesgos de transmisión de *T. cruzi* y minimizar el impacto de la enfermedad de Chagas en estas comunidades. En general, se establece que la seroprevalencia en humanos está influenciada por factores como la edad, las condiciones de vivienda rural y la exposición acumulativa a vectores.

7 Conclusiones

La alta frecuencia de infección en cabras, camuros y vacas (y su papel como fuentes de ingesta de los triatomíneos), sugiere que estos animales pueden actuar como reservorios secundarios de *T. cruzi*, facilitando la persistencia del ciclo de transmisión en áreas rurales. Sin embargo, la ausencia de parásitos en hemocultivos limita la evaluación de su capacidad de transmisibilidad activa.

La infección confirmada en *Didelphis marsupialis* destaca su papel como reservorio principal de *T. cruzi*, interactuando con vectores y otros hospedadores en zonas peridomiciliarias. Este hallazgo enfatiza la complejidad del ciclo de transmisión en ambientes rurales.

Triatoma dimidiata mostró un alto porcentaje de infección por *Trypanosoma cruzi*, confirmando su papel como principal transmisor en los municipios de Soatá y Tipacoque. Su comportamiento generalista y tendencia a la domiciliación representan un factor clave en la dinámica de transmisión del parásito.

La confirmación de casos positivos en 8 de las 100 personas tamizadas representa una situación de atención y cuidado. Su distribución en localidades con alta infestación por vectores infectados refuerza la conexión entre la exposición a *T. dimidiata* y el riesgo de adquirir la enfermedad de Chagas.

8 Limitaciones del estudio

Declaramos que este estudio presenta algunas limitaciones que deben considerarse:

1. Hemocultivos en animales de producción: Se realizaron hemocultivos utilizando sangre total, lo cual puede haber limitado la sensibilidad para detectar infecciones activas. Para futuros estudios, sugerimos la implementación de un paso adicional de concentración del parásito, como la centrifugación y hacer buffy coat para aumentar la sensibilidad de los hemocultivos.
2. Visualización del parásito: No se incluyeron placas de campo que permitieran observar directamente al parásito mediante microscopía.
3. Muestreo de gatos: Aunque los gatos (*Felis catus*) fueron identificados como una de las principales fuentes de alimentación de *Triatoma dimidiata*, no fueron incluidos en el muestreo de animales domésticos, por lo que se debieron incluir en este mismo.
4. Muestreo limitado de mamíferos silvestres: El muestreo de hospederos silvestres se realizó con un número reducido de trampas, lo que restringió la captura a un pequeño número de individuos de *Didelphis marsupialis*. Es posible que otros mamíferos con importancia igual o superior como hospederos no hayan sido considerados, lo que podría influir en la interpretación de la dinámica de transmisión del parásito en el área estudiada.

Referencias

- Alcaldía Municipal de Soatá. (2020, febrero 19). *Nuestro municipio*. <http://www.soataboyaca.gov.co/municipio/nuestro-municipio>
- Alcaldía Municipal de Tipacoque. (2018, febrero 06). *Historia*. <https://www.tipacoque-boyaca.gov.co/municipio/historia>
- Altcheh, J. M., & Freilij, H. (2019). *Chagas Disease, A Clinical Approach*. Switzerland: Springer.
- Ashford, R. W. (1996). Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. *Clinics in Dermatology*, 14(5), 523-532.
- Austad SN. The adaptable opossum. *Sci Am*. 1998; 258:98–104.
- Bustamante, D., De Urioste-Stone, S., Juarez, J., Pennington, P., 2014. Ecological, social and biological risk factors for continued *Trypanosoma cruzi* transmission by *Triatoma dimidiata* in Guatemala. *PLoS One* 9, e104599, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0104599>
- Brener, Z., Andrade, Z. A., & Barral Netto, M. (2000). *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas*. Rio de Janeiro: Wanabara Koogan SA.
- Bustamante DM, Monroy C, Pineda S, Rodas A, Castro X, Ayala V, et al. Risk factors for intradomiciliary infestation by the Chagas disease vector *Triatoma dimidiata* in Jutiapa, Guatemala. *Cad Saúde Pública*. 2009;25(Suppl.1):S83-92. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2009001300008>
- Cantillo Barraza, O., Garcés, E., Gómez Palacio, A., Cortés, L. A., Pereira, A., Marcet, P. L., Triana Chávez, O. (2015). Eco-epidemiological study of an endemic Chagas disease region in northern Colombia reveals the importance of *Triatoma maculata* (Hemiptera: Reduviidae),

dogs and *Didelphis marsupialis* in *Trypanosoma cruzi* maintenance. *Parasite & Vectors*, 8, 482.

Cantillo-Barraza, O., Medina, M., Zuluaga, S., Valverde, C., Motta, C., Ladino, A., Osorio, M. I., Jaimes-Dueñez, J., & Triana-Chávez, O. (2020). Eco-epidemiological study reveals the importance of *Triatoma dimidiata* in the *Trypanosoma cruzi* transmission, in a municipality certified without transmission by *Rhodnius prolixus* in Colombia. *Acta Tropica*, 209, 105550. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105550>

Cantillo-Barraza, O., Bedoya, S. C., Xavier, S. C. C., Zuluaga, S., Salazar, B., Vélez-Mira, A., Carrillo, L. M., & Triana-Chávez, O. (2020). *Trypanosoma cruzi* infection in domestic and synanthropic mammals such as potential risk of sylvatic transmission in a rural area from north of Antioquia, Colombia. *Parasite epidemiology and control*, 11, e00171. <https://doi.org/10.1016/j.parepi.2020.e00171>

Cantillo-Barraza, O., Medina, M., Zuluaga, S., Blanco, M. I., Caro, R., Jaimes-Dueñez, J., Beltrán, V., Xavier, S. C., & Triana-Chavez, O. (2021). Distribution and natural infection status of synanthropic triatomines (Hemiptera: Reduviidae), vectors of *Trypanosoma cruzi*, reveals new epidemiological scenarios for chagas disease in the Highlands of Colombia. *PLoS neglected tropical diseases*, 15(7), e0009574. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009574>

Caranci, A. T., Grieco, J. P., Achee, N. L., Hoel, D. F., Bautista, K., King, R., Stewart, V. A., Murphy, J., Masuoka, P., & Olsen, C. H. (2022). Distribution of *Triatoma dimidiata* sensu lato (Reduviidae: Triatominae) and Risk Factors Associated with Household Invasion in Northern Belize, Central America. *Journal of medical entomology*, 59(2), 764–771. <https://doi.org/10.1093/jme/tjab227>

Corredor Arjona, A. (2000). Distribución de Triatominos domiciliados en Colombia. *Medicina*, 22(2), 118

da Silva Leal, A. R., da Silva Ferreira, A. L., de Araujo-Pereira, T., Torres de Sousa, R. L., Furtado Campos, J. H., Tavares Dos Reis, R., Finamore-Araujo, P., Diotaiuti, L., Campos Ferreira, F., Mendonça, V. J., & Britto, C. (2024). Eco-epidemiological aspects and risk factors associated with human Chagas disease in rural areas of the state of Piauí, Brazil. *BMC infectious diseases*, 24(1), 1335. <https://doi.org/10.1186/s12879-024-10178-6>

Deane, M. P., Lenzi, H. L., & Jansen, A. (1984). *Trypanosoma cruzi*: vertebrate and invertebrate cycles in the same mammal host, the opossum *Didelphis marsupialis*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 79(4), 513–515. <https://doi.org/10.1590/s0074-02761984000400021>

de Aquino Santana, M., da Silva Ferreira, A. L., Dos Santos, L. V. B., Furtado Campos, J. H., de Sena, L. L. J., & Mendonça, V. J. (2021). Seroprevalence of Chagas disease in rural communities at Campinas do Piauí city, Brazil. *Tropical medicine & international health: TM & IH*, 26(3), 281–289. <https://doi.org/10.1111/tmi.13516>

Dias JCP, Diotaiuti L, 1998, Vectores secundarios de la enfermedad de Chagas en el Brasil y perspectivas para su control, en: Cantillo O, Gómez A. (2013). Ecoepidemiologia de vectores secundarios para la enfermedad de Chagas. En O. Triana Chávez (Ed), *Fronteras de investigación en enfermedades infecciosas: Modelo de enfermedad de Chagas*. (Edición abril 2011). Editorial Universidad de Antioquia.

De Souza W. O parasito e sua interaçao com os hospedeiros. In: Brener Z, Andrade Z, Barral-Netto M, editors. *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas*, vol. 7. 2nd ed. Río de Janeiro: Wanabara Koogan SA; 2000. p. 88–126.

Dvorak, J. A. (1975). New in vitro approach to quantitation of *Trypanosoma cruzi* vertebrate cell interactions. *PAHO*, 318, 109-120.

Dumonteil E, Ruiz-Piña H, Rodriguez-Félix E, Barrera-Pérez M, Ramirez-Sierra MJ, Rabinovich JE, Menu F. Re-infestation of houses by *Triatoma dimidiata* after intra-domicile insecticide application in the Yucatán peninsula, Mexico. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004

May;99(3):253-6. doi: 10.1590/s0074-02762004000300002. Epub 2004 Jul 19. PMID: 15273795.

Dumonteil, E., Nouvellet, P., Rosecrans, K., Ramirez-Sierra, M.J., Gamboa-León, R., Cruz-Chan, V., Rosado-Vallado, M., Gourbière, S., 2013. Eco- Bio-Social determinants for house infestation by non-domiciliated *Triatoma dimidiata* in the Yucatan Peninsula, Mexico. *PLoS Negl. Trop Dis.* 7, 1–9, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0002466>.

Enriquez, G. F., Bua, J., Orozco, M. M., Wirth, S., Schijman, A. G., Gürtler, R. E., & Cardinal, M. V. (2014). High levels of *Trypanosoma cruzi* DNA determined by qPCR and infectiousness to *Triatoma infestans* support dogs and cats are major sources of parasites for domestic transmission. *Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 25, 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.04.002>

Flores-Ferrer, A., Waleckx, E., Rascalou, G., Dumonteil, E., & Gourbière, S. (2019). *Trypanosoma cruzi* transmission dynamics in a synanthropic and domesticated host community. *PLoS neglected tropical diseases*, 13(12), e0007902. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007902>.

García-Jordán, Noris et al. Seroprevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* en la población rural del estado Sucre, Venezuela. *Cadernos de Saúde Pública*. 2017, v. 33, n. 10, e00050216. <https://doi.org/10.1590/0102-311X00050216>.

Gual-Gonzalez, L., Medina, M., Valverde-Castro, C., Beltrán, V., Caro, R., Triana-Chávez, O., Nolan, M. S., & Cantillo-Barraza, O. (2022). Laboratory Evaluation and Field Feasibility of Micro-Encapsulated Insecticide Effect on *Rhodnius prolixus* and *Triatoma dimidiata* Mortality in Rural Households in Boyacá, Colombia. *Insects*, 13(11), 1061. <https://doi.org/10.3390/insects13111061>

- Guhl, F., Aguilera, G., Pinto, N., & Vergara, D. (2007). Actualización de la distribución geográfica y ecoepidemiología de la fauna de triatominos (Reduviidae: Triatominae) en Colombia. *Biomédica*, 27 (1esp), 143-162.
- Guhl F, Lazdins-Helds J, (2007), Grupo de trabajo científico: Reporte sobre la enfermedad de Chagas, Buenos Aires, Programa Especial de Investigaciones y Enseñanzas sobre Enfermedades Tropicales, Ginebra, STDR-WHO y PAHO, pp. 2, 10, 11, 14, 32, 33, 38.
- Guhl F, Ramírez JD. Retrospective molecular integrated epidemiology of Chagas disease in Colombia. *Infect Genet Evol.* 2013; 20:148–54.
- Gurgel-Gonçalves R, Cura C, Schijman AG, Cuba CA. Infestation of *Mauritia flexuosa* palms by *triatomines* (Hemiptera: Reduviidae), vectors of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* in the Brazilian savanna. *Acta Trop.* 2012;121(2):105–11.
- Gürtler, R. E., Cecere, M. C., Lauricella, M. A., Cardinal, M. V., Kitron, U., & Cohen, J. E. (2007). Domestic dogs and cats as sources of *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. *Parasitology*, 134(Pt 1), 69–82. <https://doi.org/10.1017/S0031182006001259>
- Gürtler, R. E., & Cardinal, M. V. (2015). Reservoir host competence and the role of domestic and commensal hosts in the transmission of *Trypanosoma cruzi*. *Acta tropica*, 151, 32–50. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.05.029>
- Haydon, D. T., Cleaveland, S., Taylor, L., & Laurenson, M. (2002). Identifying Reservoirs of Infection: A Conceptual and Practical Challenge. *Emerging infectious diseases*, 8(12), 1468–1473.
- Hernández, C., Salazar, C., Brochero, H., Teherán, A., Buitrago, L. S., Vera, M., Soto, H., Florez-Rivadeneira, Z., Ardila, S., Parra-Henao, G., & Ramírez, J. D. (2016). Untangling the transmission dynamics of primary and secondary vectors of *Trypanosoma cruzi* in Colombia:

parasite infection, feeding sources and discrete typing units. *Parasites & vectors*, 9(1), 620.
<https://doi.org/10.1186/s13071-016-1907-5>

Herrera L, D'Andrea PS, Xavier SC, Mangia RH, Fernandes O, Jansen AM. *Trypanosoma cruzi* infection in wild mammals of the National Park 'Serra da Capivara' and its surroundings (Piauí, Brazil), an area endemic for Chagas disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2005;99(5):379–88.

Jansen, A. M., & Roque, A. L. R. (2010). 11 - Domestic and Wild Mammalian Reservoirs. In *American Trypanosomiasis* (pp. 249–276). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384876-5.00011-3> En: Herrera, L., D' Andrea, P.S., Xavier, S.C., Mangia, R.H., Fernandes, O., Jansen, A.M., 2005. *Trypanosoma cruzi* infection in wild mammals of the National Park "Serrada Capivara" and surroundings (Piauí, Brazil), an area endemic for Chagas disease and Rozas, M.; Botto-Mahan, C.; Coronado, X.; Ortiz, S.; Cattán, P.; Solari, A. 2007. Coexistence of *Trypanosoma cruzi* genotypes in wild and peridomestic mammals in Chile. *Am. J Trop. Med. Hyg.* 77: 647-653.

Lent, Herman. & Wygodzinsky, Petr, (1979). *Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease.* Bulletin of the AMNH; v. 163, article 3. <https://www.biodiversitylibrary.org/bibliography/89400>

Marcili, A., Lima, L., Cavazzana, M., Junqueira, A. C., Veludo, H. H., Maia Da Silva, F., Campaner, M., Paiva, F., Nunes, V. L., & Teixeira, M. M. (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*, 136(6), 641–655. <https://doi.org/10.1017/S0031182009005861>

Marcili A, Lima L, Valente VC, Valente SA, Batista JS, Junqueira AC, et al. Comparative phylogeography of *Trypanosoma cruzi* TCIIc: new hosts, association with terrestrial ecotopes, and spatial clustering. *Infect Genet Evol.* 2009;9(6):1265–74.

Miles MA, Arias JR, de Souza AA. Chagas' disease in the Amazon basin: V. Periurban palms as habitats of *Rhodnius robustus* and *Rhodnius pictipes*-triatomine vectors of Chagas disease. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1983;78(4):391–8.

Ministerio de Salud y Protección Social. (04 de octubre de 2019). *Otros 33 municipios de Colombia bloquearon la transmisión de la enfermedad de Chagas*. Obtenido de GOV.CO: <https://www.minsalud.gov.co/Paginas/Otros-33-municipios-de-Colombia-bloquearon-la-transmision-de-la-enfermedad-de-Chagas.aspx>

Monroy-Díaz A, Rodríguez-Niño S, Suescún-Carrero SH, Ramírez-López L. Seroprevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi* y factores asociados en Miraflores, Boyacá, Colombia. Revista Investig Salud Univ Boyacá. 2018;5:(1):31-47. doi: <https://doi.org/10.24267/23897325.284>

Moo-Millan, J. I., Arnal, A., Pérez-Carrillo, S., Hernandez-Andrade, A., Ramírez-Sierra, M. J., Rosado-Vallado, M., Dumonteil, E., & Waleckx, E. (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(1), 572. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3819-7>

Noireau, F., Diosque, P., & Jansen, A. M. (2009). *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. *Veterinary research*, 40(2), 26. <https://doi.org/10.1051/vetres/2009009>

Olifiers N., Gentile R., Fizon J.T. Relation between small-mammal species composition and anthropic variables in the Brazilian Atlantic Forest. *Braz. J. Biol.* 2005; 65:495–501. doi: 10.1590/s1519-69842005000300015.

Ortiz Sánchez, Yurany, Martínez Guzmán, Mariana, Kübler, Isabelle, Ariza, Manuel Fernando, Castro Molina, Susan, & Infante-González, John. (2021). Diversidad genética del Ovino Criollo de Pelo Colombiano mediante el uso del marcador molecular de tipo polimorfismos

de nucleótido simple (SNP). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 32(1), e19487.
<https://doi.org/10.15381/rivep.v32i1.19487>

Paho.org. Enfermedad de Chagas. (s/f). Recuperado el 22 de octubre de 2023, de
<https://www.paho.org/es/temas/enfermedad-chagas>

Pinto, C. M., Kalko, E. K., Cottontail, I., Wellinghausen, N., & Cottontail, V. M. (2012). TcBat a bat-exclusive lineage of *Trypanosoma cruzi* in the Panama Canal Zone, with comments on its classification and the use of the 18S rRNA gene for lineage identification. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 12(6), 1328–1332. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.04.013>

Quirós-Gómez, Óscar, Jaramillo, Nicolás, Angulo, Víctor M., & Parra-Henao, Gabriel. (2017). *Triatoma dimidiata* en Colombia; distribución, ecología e importancia epidemiológica. *Biomédica*, 37(2), 274-285. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i2.2893>

Ramírez, J. D., Turriago, B., Tapia-Calle, G., & Guhl, F. (2013). Understanding the role of dogs (*Canis lupus familiaris*) in the transmission dynamics of *Trypanosoma cruzi* genotypes in Colombia. *Veterinary parasitology*, 196(1-2), 216–219. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.054>

Ramírez, J. D., Tapia-Calle, G., Muñoz-Cruz, G., Poveda, C., Rendón, L. M., Hincapié, E., & Guhl, F. (2014). Trypanosome species in neo-tropical bats: biological, evolutionary and epidemiological implications. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 22, 250–256. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.06.022>

Reyes-Novelo, E., Ruiz-Piña, H., Escobedo-Ortegón, J., Barrera-Pérez, M., Manrique-Saide, P., & Rodríguez-Vivas, R. I. (2013). *Triatoma dimidiata* (Latreille) abundance and infection with *Trypanosoma cruzi* in a rural community of Yucatan, Mexico. *Neotropical entomology*, 42(3), 317–324. <https://doi.org/10.1007/s13744-013-0120-x>

Rocha FL, Roque AL, Arrais RC, Santos JP, Lima Vdos S, Xavier SC, et al. *Trypanosoma cruzi* TcI and TcII transmission among wild carnivores, small mammals and dogs in a conservation unit and surrounding areas. *Brazil Parasitology*. 2013;140(2):160–70.

Roque AL, Xavier SC, da Rocha MG, Duarte AC, D’Andrea PS, Jansen AM. *Trypanosoma cruzi* transmission cycle among wild and domestic mammals in three areas of orally transmitted Chagas disease outbreaks. *Am J Trop Med Hyg*. 2008;79(5):742–9

Tamay-Segovia, P., Blum-Domínguez, S. C., Núñez-Oreza, L. A., Martínez-Hernández, F., Gómez-Solano, M. I., Maldonado-Velázquez, M. G., & Retana-Guiascón, O. G. (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 Journal of Veterinary Sciences*, 49(1), 35-38.

Urdaneta-Morales, S., & Nironi, I. (1996). *Trypanosoma cruzi* in the anal glands of urban opossums. I--Isolation and experimental infections. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 91(4), 399–403. <https://doi.org/10.1590/s0074-02761996000400002>

Velásquez-Ortiz, N., Hernández, C., Cantillo-Barraza, O., Medina, M., Medina-Alfonso, M., Suescún-Carrero, S., Muñoz, M., Vega, L., Castañeda, S., Cruz-Saavedra, L., Ballesteros, N., & Ramírez, J. D. (2022). Estimating the genetic structure of *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) and the transmission dynamics of *Trypanosoma cruzi* in Boyacá, eastern Colombia. *PLoS neglected tropical diseases*, 16(7), e0010534. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010534>

Ventura-García L, Roura M, Pell C, Posada E, Gascón J, Aldasoro E, et al. Socio-cultural aspects of Chagas disease: A systematic review of qualitative research. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7: e2410. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0002410>

Vivas A, Nini, Landi, Vincenzo, Muñoz F, Jaime, Bustamante Y, Moris, & Álvarez F, Luz. (2020). Diversidad genética de ovinos criollos colombianos. *Revista MVZ Córdoba*, 25(3), 144-153. Epub August 07, 2022. <https://doi.org/10.21897/rmvz.2185>

Wong, Y. Y., Sornosa Macias, K. J., Gualé Martínez, D., Solorzano, L. F., Ramírez-Sierra, M. J., Herrera, C., & Dumonteil, E. (2016). Molecular epidemiology of *Trypanosoma cruzi* and *Triatoma dimidiata* in coastal Ecuador. *Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 41, 207–212. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.04.001>

Zeledón R, Solano G, Zúñiga A, Swartzwelder JC. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811).3. Habitat and blood sources. *J Med Entomol*. 1973;10:363-70. <http://dx.doi.org/10.1093/jmedent/10.4.363>

Zeledón R, Rabinovich JE. Chagas Disease: an ecological appraisal with special emphasis on its insect vector. *Annu Rev Entomol*. 1981; 26:101–33.

Zingales B, Andrade SG, Briones MR, Campbell DA, Chiari E, Fernandes O, et al. Second Satellite Meeting. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104(7): 1051–4.

Zingales B, Miles MA, Campbell DA, Tibayrenc M, Macedo AM, Teixeira MM, et al. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infect Genet Evol*. 2012;12(2):240–53.

Zingales B. *Trypanosoma cruzi* genetic diversity: something new for something known about Chagas disease manifestations, serodiagnosis and drug sensitivity. *Acta Trop*. 2018;184:38. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.09.017>. Review. pii: S0001-706X (17)30426-6.