

SEROPREVALENCIA DE LA INFECCION POR *Trypanosoma cruzi* EN PERROS DE UNA COMUNIDAD YUKPA DE LA SIERRA DE PERIJÁ, ESTADO ZULIA, VENEZUELA

Seroprevalence of Trypanosoma Cruzi Infection in Dogs From a Yukpa Ethnic Community at Sierra de Perija, Zulia State, Venezuela

Angela Bracho-Mora², Gladys Crisante¹, Wilfredo Marín², Ángel Picón², José Ángel Urdaneta², Zulbey Rivero de Rodríguez², Ricardo Atencio-Tello², Rafael Villalobos-Perozo³ y Néstor Añez^{1*}

¹Investigaciones Parasitológicas "J.F.Torrealba", Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, 5101, Venezuela. ²Laboratorio de Parasitología "Dr. Regino Arapé García". Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. ³Cátedra de Medicina Tropical. Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. *: Tel/Fax: +58 274 2401285. E-mail: nanes@ula.ve

RESUMEN

Se evaluaron serológicamente 60 perros muestreados en una comunidad de la etnia Yukpa de la Sierra de Perijá al occidente de Venezuela con la finalidad de detectar infección por *Trypanosoma cruzi*. Se relacionó la seropositividad detectada en perros intra y extradomiciliarios con otras variables epidemiológicas, incluyendo edad y sexo de los animales y el tipo de vivienda de sus dueños. La utilización de las técnicas de aglutinación directa (TAD) e inmunofluorescencia indirecta (IFI), como pruebas serológicas, permitió la detección de anticuerpos circulantes anti-*T. cruzi* en el 63% (38/60) de los perros muestreados, observándose coincidencia diagnóstica entre ellas. Los títulos de anticuerpos anti-*T. cruzi* registraron rangos de 128 hasta 4096 y de 64 hasta 512 para TAD e IFI, respectivamente. El análisis estadístico reveló diferencias significativas ($P < 0,05$) cuando se comparó la seropositividad entre perros extradomiciliarios (35%) y los mantenidos en el domicilio (28%). Sin embargo, no se encontró significación estadística ($P > 0,05$) entre la sero-infección por *T. cruzi* en perros y las otras variables epidemiológicas evaluadas. La seroprevalencia detectada en los perros estudiados sugiere un importante rol de estos animales en el mantenimiento de *T. cruzi* circulando en la localidad, lo cual representa un factor de riesgo potencial para el establecimiento de la enfermedad de Chagas como endemia en la comunidad Yukpa de la Sierra de Perijá.

Palabras clave: *Trypanosoma cruzi*; perros; enfermedad de Chagas; seroprevalencia.

ABSTRACT

Sixty dogs from a Yukpa ethnic community at Sierra de Perijá in western Venezuela were serologically evaluated to detect infection by *Trypanosoma cruzi*. Infections detected in intra and extradomiciliary dogs were compared, and their relationships with epidemiological variables, such as age, sex, and housing conditions, were established. The use of two serological tests, the direct agglutination test (DAT) and the immuno-fluorescent antibody test (IFAT), revealed circulating anti-*T. cruzi* antibodies in 63% (38/60) of sera samples from evaluated dogs, showing agreement between the two diagnostic tests. In addition, the recorded anti-*T. cruzi* antibody titres ranged from 128 to 4096 and from 64 to 512 for DAT and IFAT, respectively. Statistical analysis revealed significant differences ($P < 0.05$) when *T. cruzi* seropositivity between extradomiciliary (35%) and intradomiciliary (28%) dogs were compared. However, no significant differences ($P > 0.05$) among *T. cruzi* sero-infection in dogs and other epidemiological variables were detected. The relatively high seroprevalence in the evaluated dogs suggest an important role played by these animals in the maintenance of *T. cruzi* circulation in the locality, which may be considered a potential risk factor for the endemic establishment of Chagas disease at the Yukpa ethnic community at the Sierra de Perijá.

Key words: *Trypanosoma cruzi*; dogs; Chagas disease; seroprevalence.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana, infección causada por *Trypanosoma cruzi*, es en la actualidad el mayor problema de salud pública y la dolencia parasitaria de mayor carga económica registrada en el continente Americano. El hecho de afectar cerca de 10 millones de personas, mantener bajo riesgo de infección aproximadamente 100 millones de individuos que moran en áreas rurales de 21 países en Latinoamérica y generar gastos sobre los siete billones de dólares por año, parece corroborar la afirmación anterior [4,16,24]. El parásito es naturalmente transmitido al hospedador humano por insectos hematófagos de la subfamilia Triatominae depositando heces contentivas de formas infectivas sobre mucosas o conjuntivas durante la ingesta sanguínea. Sin embargo, *T. cruzi* logra también infectar al hospedador vertebrado oralmente mediante la ingesta de alimentos contaminados, por transfusión de sangre proveniente de donadores infectados, congénita o transplacentariamente de madres infectadas a sus crías o por trasplantes de órganos infectados [1,5,9,15,21,25].

Aunado al panorama descrito para los humanos, debe añadirse el gran número de mamíferos domésticos y silvestres infectados o en riesgo de adquirir la infección por *T. cruzi* en las mismas áreas donde ocurre la infección humana, muchos de los cuales son considerados reservorios de la parasitosis, resaltando entre ellos el perro (*Canis lupus familiaris*) como especie de mantenimiento de la infección natural en los alrededores del domicilio humano [12]. Es bien conocido que el perro es una frecuente fuente de sangre para Triatominos, habiéndose registrado en algunas especies mayor tendencia a alimentarse sobre perros que sobre cebo humano [14]. Asimismo, el hecho de que perros infectados con *T. cruzi* resultan más infecciosos para Triatominos que personas con la misma infección, revela la potencialidad del riesgo de transmisión de la infección chagásica en el ámbito domiciliar, habiéndose estimado que la presencia de perros infectados en el domicilio podría cuadruplicar el riesgo de la infección en niños [7, 14, 26].

En relación con la distribución en América de la infección por *T. cruzi* en perros, la misma ha sido registrada desde el suroeste de Estados Unidos hasta Argentina, habiéndose señalado la asociación perro-parásito en diferentes condiciones geográficas, grados de endemidad, factores de riesgo, cercanía al domicilio humano y compañía en labores de caza en los distintos países [10,13,17,18,22,23].

En Venezuela, aunque se desconoce la prevalencia real de la infección por *T. cruzi* en la población canina, existe información desde mediados del siglo pasado advirtiendo sobre el potencial peligro que representa la asociación *T. cruzi*-perro, estimada para entonces en 37% [19]. Este hecho fue considerado como factor de riesgo epidemiológicamente importante dada la posibilidad de convertirse en fuente de infección de *T. cruzi* para Triatominos vectores y la población humana de áreas rurales, para quienes el perro ha sido un componente infaltable en la

unidad domiciliar [19]. Más recientemente, Crisante y col. [12], luego de examinar 565 perros provenientes la mayoría de áreas rurales de 47 localidades de ocho Estados del occidente de Venezuela, registran una prevalencia a *T. cruzi* de 68%. Esta información aporta claves sobre la potencialidad de la infección por *T. cruzi* en perros del ámbito rural en todo el territorio del país y sugiere el riesgo que representa la transmisión de enfermedad de Chagas a la población humana. Asimismo, desde el punto de vista epidemiológico permite considerar este animal como un importante factor en el mantenimiento de *T. cruzi* en las biocenosis naturales, origen de futuros focos de infección chagásica en pobladores rurales [12].

En reciente publicación, Añez y col. [2] registran por primera vez en una comunidad de la etnia Yukpa del occidente de Venezuela, infección chagásica subclínica o inaparente en individuos aparentemente sanos habiendo, asimismo, detectado anticuerpos circulantes anti-*T. cruzi* en una muestra de ocho perros examinados serológicamente [2]. Tomando en consideración lo anteriormente expresado y el antecedente señalado, en el presente trabajo se registra un estudio serológico en una muestra de 60 perros, intra y extradomiciliarios, que convivían en una comunidad Yukpa de la Sierra de Perijá al occidente de Venezuela, con la finalidad de indagar sobre la seroprevalencia a la infección por *T. cruzi* y aportar elementos que permitan estimar el riesgo de la infección chagásica en la población indígena.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El presente trabajo fue llevado a cabo en la localidad de Toromo, asiento de una comunidad indígena de la etnia Yukpa, localizada en la Sierra de Perijá, estado Zulia al occidente de Venezuela. La misma se ubica a 275 m.s.n.m entre 72° 15' y 73° 15' O y 9° 00' y 11° 10' N. Detalles sobre densidad poblacional, características ecológicas incluyendo rasgos climáticos y actividad económica y agrícola, se registraron en previa publicación [2].

Muestreo de perros, procesamiento de muestras y criterio diagnóstico

Un total de 60 perros mestizos (19 hembras y 41 machos), 10 perros de 0-3 años y 50 de 4-7 años, 27 cazadores de oficio (extradomiciliarios) y 33 permanentemente en el domicilio (intradomiciliarios), fueron seleccionados mediante un muestreo aleatorio simple de aproximadamente 200 caninos existentes en la comunidad estudiada, para llevar a cabo exámenes seroparasitológicos con la finalidad de detectar infección por *T. cruzi*. Previo al muestreo, para cumplir con requerimientos éticos, se procedió a llenar el requisito de consentimiento informado ante los dueños de los animales en el caso de los perros que permanecían en el domicilio y ante el Cacique de la comunidad indígena cuando no había un dueño específico y el perro se consideraba propiedad de la comunidad. El muestreo de cada perro fue llevado a cabo con la ayuda de su respectivo dueño o el Cacique, según el caso, y consistió en la toma de una muestra

de 2,5 mL de sangre periférica obtenida de la vena safena. La muestra tomada fue repartida en dos alícuotas, una para la realización de hemocultivos en tubos conteniendo medio difásico NNN [2, 12] para constatar presencia de parásitos circulantes, y la otra procesada para examen serológico para detectar anticuerpos anti-*T. cruzi* [12].

El examen parasitológico consistió en la observación periódica de los hemocultivos hasta completar 60 días, cuando fueron descartados de no presentar flagelados a la observación microscópica (Microscopio Axioscop, Zeiss, Alemania, conectado a cámara Noticam 480 en interfase con computadora laptop-HP), siguiendo un protocolo reportado previamente [3]. Para el estudio serológico fueron utilizadas las técnicas de aglutinación directa (TAD) y la prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) para detección de inmunoglobulina G (IgG) específica anti-*T. cruzi*, siguiendo las condiciones y procedimientos previamente descritos [2, 3, 12]. Las muestras de suero de los perros examinados fueron consideradas positivas a la infección por *T. cruzi*, a partir del título 128 para TAD y 64 para IFI. El criterio diagnóstico de sero-positividad fue establecido cuando la reactividad de las dos pruebas coincidió y se adaptó a los títulos de corte establecidos.

Identificación de factores de riesgo y análisis estadístico

Con el fin de llevar un control de las muestras y la identificación de los factores de riesgo asociados a la infección por *T. cruzi* se realizó una boleta informativa. La información fue obtenida voluntariamente de los dueños de los perros, con el fin de relacionar la infección por *T. cruzi* con las variables epidemiológicas consideradas en el estudio, las cuales incluyeron edad, sexo, actividad del animal y tipo de vivienda donde residían. Para establecer los posibles factores de riesgo, analizando las variables epidemiológicas y los resultados de las pruebas diagnósticas, se aplicó como estadístico la prueba de Ji Cuadrado (χ^2) utilizando los programas Microsoft Excel® 2010, SPSS versión 15 y Statgraphics para el procesamiento y análisis estadístico de los datos. Tomando como asociación estadística significativa un valor $P \leq 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis sistemático llevado a cabo mediante observaciones cada cinco días, durante al menos dos meses, de hemocultivos conteniendo muestras de sangre de los 60 perros estudiados, no reveló en ningún caso la presencia de formas circulantes de *T. cruzi* cuando fueron examinadas microscópicamente. Este hecho coincide con previas observaciones en perros de la misma localidad y de parte de la población humana, la cual mostró

casos de infecciones subclínicas o inaparentes, no habiéndose detectado parásitos en sangre circulante [2]. El mismo contrasta con estudios realizados en otras regiones del occidente de Venezuela, donde la enfermedad de Chagas es endémica y donde los perros examinados asociados con pacientes con historial chagásico mostraron hasta un 14% de positividad a la presencia de parásitos circulantes en sangre [12]. En este sentido podría especularse que la baja población parasitaria que ocasiona las infecciones inaparentes en humanos pareciera ser un reflejo de las bajas cargas por *T. cruzi* que caracterizan a los pobladores de la localidad, incluyendo a los perros y/o quizás otros hospedadores mamíferos, posiblemente debido a la existencia de una estabilidad endémica muy comúnmente observada en grupos de animales involucrados en el mantenimiento de biocenosis naturales [11].

Contrario al resultado arrojado por el hemocultivo, el examen serológico realizado en los 60 perros estudiados reveló seropositividad en 38 de ellos (63%). La coincidencia diagnóstica entre las dos pruebas serológicas utilizadas reveló el cumplimiento del criterio establecido para declarar una muestra seropositiva, indicando que más de la mitad de los perros examinados había tenido contacto previo con el agente etiológico y generado respuesta humoral, demostrado por la detección de anticuerpos específicos anti-*T. cruzi* a diferentes títulos de reactividad. Este hecho es indicativo de la presencia de *T. cruzi* circulando en el área de estudio y alcanzando a los perros que resultaron seropositivos, y el cual merece ser investigado en futuros intentos. Una de las razones que despierta el interés por futuras investigaciones es el hecho que 89 y 74% de los perros seropositivos mostraron títulos de anticuerpos específicos anti-*T. cruzi* entre 128 y 512 cuando las muestras fueron procesadas con TAD e IFI, respectivamente. Asimismo, la circunstancia de que ambas pruebas están asociadas a IgG, confirma que las muestras procesadas procedían de animales que habían tenido contacto con el parásito mucho antes de la toma de la muestra investigada. Otro aspecto que apoya lo anterior es la detección en algunos casos de altos títulos de anticuerpos anti-*T. cruzi* entre 1024 y 4096, indicando que algunos perros responden fuertemente ante la infección, posiblemente por haber sido infectados por una carga parasitaria considerablemente mayor, lo cual sugiere que el contacto entre los perros de la localidad y la fuente de infección es relativamente accesible a estos mamíferos. Detalles sobre la seropositividad observada y su relación con los títulos de anticuerpos anti-*T. cruzi* registrados se muestran en la TABLA I.

TABLA I

DETECCIÓN DE SEROPOSITIVIDAD Y TÍTULOS DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS ANTI-*Trypanosoma cruzi* EN PERROS DE LA COMUNIDAD YUKPA DE TOROMO, SIERRA DE PERIJÁ, ZULIA, VENEZUELA

Prueba serológica (Nº muestras procesadas)	Títulos de anticuerpos registrados en muestras de suero							Nº (%) seropositividad
	64	128	256	512	1024	2048	4094	
TAD (60)		21	7	6	2	1	1	38 (63)
IFI (60)	10	15	2	11				38 (63)

TAD: Test de aglutinación directa
IFI: Prueba de Inmuno-fluorescencia indirecta

En relación con la estructura poblacional de la muestra de perros examinados y la seropositividad observada es interesante constatar que en animales de diferentes edades, sexo, comportamientos (intra y extradomiciliarios) o albergues, fueron detectados distintos niveles de seropositividad. La comparación estadística entre perros de diferentes edades no mostró significación estadística ($P > 0,05$). Sin embargo, es necesario resaltar que el 70% de los perros entre 0 y 3 años presentó seropositividad a *T. cruzi*, lo cual podría estar indicando, por una parte, la cercanía de la fuente de infección, y por la otra, la posibilidad de transmisión congénita como ocurre en otros mamíferos [6], factores que podrían estar favoreciendo la circulación del parásito en la población indígena. De la misma manera, al comparar la seropositividad observada entre perros de ambos sexos y la detectada en animales que pernoctan en las diferentes viviendas de la localidad, tampoco fue observada significación estadística ($P > 0,05$). No obstante, es necesario resaltar que la comparación entre la seropositividad detectada en perros intra y extradomiciliarios, arrojó diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$). Este hecho es importante desde el punto de vista epidemiológico tomando en consideración que del total de perros examinados, 54 y 45% correspondieron a animales intra y extradomiciliarios, respectivamente, siendo, sin embargo, la seropositividad significativamente mayor en perros extradomiciliarios (78%) que en los intradomiciliarios (51%). El presente hallazgo revela la común circulación de *T. cruzi* en caninos de esta comunidad indígena y advierte que la potencialidad del riesgo de la infección a la población humana parece ser cuestión de tiempo para enfrentar brotes de la infección chagásica. Los detalles sobre la frecuencia de la seroinfección por *T. cruzi* considerando las diferentes variables son presentados en la TABLA II.

Otro aspecto interesante del presente estudio surge de la comparación de los resultados obtenidos del análisis serológico entre 60 perros de la comunidad Yukpa de la sierra de Perijá y los obtenidos por Crisante y col. [12] en 565 perros de 47 localidades endémicas para la enfermedad de Chagas de ocho Estados del occidente de Venezuela, no detectándose diferencias significativas desde el punto de vista estadístico. Esto sugiere que en la localidad de estudio la presencia de perros infectados podría estar jugando un papel importante en el mantenimiento de *T. cruzi* pudiéndose considerar este hecho como factor de riesgo en la dinámica de transmisión de esta parasitosis y a la localidad Yukpa de Toromo como potencialmente endémica. Esta advertencia podría tener sentido tomando en consideración que los resultados sobre serología en caninos detectados en la localidad estudiada superan otros valores señalados para regiones del oriente de Venezuela y de países latinoamericanos considerados como endémicos para la enfermedad de Chagas [8,20].

CONCLUSION

El análisis anterior permite concluir que los resultados obtenidos en esta investigación sobre la seroprevalencia a la infección por *T. cruzi* en perros de la comunidad Yukpa asentada en la localidad de Toromo de la Sierra de Perijá, estado Zulia, Venezuela, sugieren que estos animales contribuyen al mantenimiento de *T. cruzi* como una biocenosis natural posiblemente de larga data y participando activamente como elemento importante en la dinámica de transmisión del parásito, lo cual podría epidemiológicamente considerarse como factor de riesgo potencial para los habitantes del área. Asimismo, el comportamiento de los caninos extradomiciliarios constituyó un factor de riesgo importante en el mantenimiento del parásito en la comunidad indígena estudiada. Estos resultados constituyen

TABLA II
VARIABLES EPIDEMIOLÓGICAS ESTUDIADAS EN CANINOS DE LA COMUNIDAD DE TOROMO,
SIERRA DE PERIJÁ, ESTADO ZULIA

Variable	N	Positivo	Frecuencia (%)	Negativo	Frecuencia (%)	χ^2	Valor de P
Edad del canino							
4-7 años	50	31	51,6	19	31,6	0,22967	> 0,05
0-3 años	10	7	11,6	3	5		
Tipo de Vivienda							
Bloque	41	26	43,3	15	25	2,42869	> 0,05
Madera	12	6	10	6	10		
Lámina metálica	7	6	10	1	16		
Sexo							
Hembras	19	13	22	6	10	0,30993	> 0,05
Machos	41	25	41,6	16	26,6		
Costumbre de Caza							
Extradomiciliario	27	21	35	6	10	4,41061*	< 0,05
Intradomiciliario	33	17	28,4	16	26,6		

* Diferencia significativa

un alerta epidemiológica que debe ser tomada en consideración para establecer políticas y medidas de control necesarias para prevenir la infección por *T. cruzi* en pobladores humanos de esta localidad y otras vecindades indígenas de la región.

AGRADECIMIENTO

A la comunidad de Toromo por su receptividad y colaboración a través del tiempo y por permitir vivir y sentir sus problemas. Este trabajo fue concebido para la realización de tesis de grado para estudiantes de la Escuela de Bioanálisis de la Universidad del Zulia. Trabajo financiado parcialmente por CDCHTA-ULA proyectos C-1821-07-AA (NA) y C-1820-07-A (GC). Los autores agradecen el apoyo recibido por el Vice-rectorado Administrativo de la Universidad de Los Andes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALARCÓN DE N, B.; DÍAZ-BELLO, Z.; COLMENARES, C.; RUIZ-GUEVARA, R.; MAURIELLO, L.; ZAVALA-JASPE, R.; SUAREZ, J.A.; ABATE, T.; NARANJO, L.; PAIVA, M.; RIVAS, L.; CASTRO, J.; MARQUES, J.; MENDOZA, I.; ACQUATELLA, H.; TORRES, J.; NOYA, O. Large urban outbreak of orally acquired acute Chagas disease at a school in Caracas, Venezuela. **J. Inf. Dis.** 201(9): 1308-1315. 2010.
- [2] AÑEZ, N.; ATENCIO, R.; RIVERO, Z.; BRACHO, A.; ROJAS, A.; ROMERO, M.; CRISANTE, G. Chagas disease inapparent infection in asymptomatic individuals from a Yukpa ethnic a community in western Venezuela. **Bol. Mal. Salud Amb.** 2:167-168. 2011.
- [3] AÑEZ, N.; CARRASCO, H.; PARADA, H.; CRISANTE, G.; ROJAS, A.; GONZÁLEZ, N.; RAMÍREZ, J.L.; GUEVARA, P.; RIVERO, C.; BORGES, R. & SCORZA, J.V. Acute Chagas disease in Western Venezuela. A clinical, seroparasitological and epidemiological study. **Am. J. Trop. Med. & Hyg.** 60(2): 215-22. 1999.
- [4] AÑEZ, N.; CRISANTE, G.; ARAUJO, S.; AÑEZ, M.; ROJAS, A.; PARADA, H. Detection and significance of *Trypanosoma cruzi* persistence at gingival inflammation foci in Chagas disease. **Int. J. Clin. Med. Res.** 2(2):8-13. 2015.
- [5] AÑEZ, N.; CRISANTE, G.; ROJAS, A.; DÁVILA, D. Brote de enfermedad de Chagas agudo de posible transmisión oral en Mérida, Venezuela. **Bol. Mal. Sal. Amb.** 53(1): 1-11. 2013.
- [6] AÑEZ, N.; CRISANTE, G.; SORIANO, P.J. *Trypanosoma cruzi* congenital transmission in wild bats. **Act. Trop.** 109:78-80. 2009.
- [7] BASOMBRIO, M.A.; SEGURA, M.A.; MORA, M.C.; GOMEZ, L. Field trial of vaccination against American trypanosomiasis (Chagas Disease) in dogs. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 49(1):143–151. 1993.
- [8] BERRIZBEITIA, M.; CONCEPCIÓN, J.L.; CAZORLA, V.; RODRÍGUEZ, J.; CÁCERES, A.; QUIÑONES, W. Seroprevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* en *Canis familiaris* del estado Sucre, Venezuela. **Biomed.** 33:6-9. 2013.
- [9] BITTENCOURT, A. L. Transmissão vertical da doença de Chagas. In: ***Trypanosoma cruzi e doença de Chagas***. Brener Z., Andrade Z.A., Barral-Neto M. Ed. 2^{da} Edição. Guanabara Koogan. Pp 16-20. 2000.
- [10] CARRILLO-PERAZA, J.R.; MANRIQUE-SAIDE, P.; RODRÍGUEZ-BUENFIL, J.C.; ESCOBEDO-ORTEGÓN, J.F.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R.I.; BOLIO-GONZÁLEZ, M.E.; BARRERA-PÉREZ, C.; REYES-NOVELO, E.; SAURI-ARCEO, C.H. Estudio serológico de la Tripanosomiasis Americana y factores asociados en perros de una comunidad rural de Yucatán, México. **Arch. Med. Vet.** 46:75-81. 2014.
- [11] COLEMAN, P.G.; PERRY, BD.; WOOLHOUSE, M.E. Endemic stability – a veterinary idea applied to human public health. **Lancet** 357: 1284–1286. 2001
- [12] CRISANTE, G.; ROJAS, A.; TEIXEIRA, M.; AÑEZ, N. Infected dogs as a risk factor in the transmission of human *Trypanosoma cruzi* infection in western Venezuela. **Act. Trop.** 98:248-250. 2006.
- [13] GRAIFF, D.S.; ZURBRIGGEN, G.; ALEU, G.; SEQUEIRA, G.; FAYA, M.; MARINI, V.; MUCHA, C.; WIDENHORN, N.; MORETTI, E.; BASSO, B. Seropositividad para *Trypanosoma cruzi* en caninos de la localidad de La Para (Córdoba Argentina). **In. Vet.** 11:2-3. 2009.
- [14] GÜRTLER, R. E.; CECERE, M. C.; CASTANERA, M. B.; CANALE, D.; LAURICELLA, M. A.; CHUIT, R.; SEGURA E. L. Probability of infection with *Trypanosoma cruzi* of the vector *Triatoma infestans* fed on infected humans and dogs in northwest Argentina. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 55: 24-31. 1996.
- [15] KALIL, J.; BOCCHI, E.A.; CUNHA-NETO, E. Transplante cardíaco para tratamiento da miocardiopatia chagásica. In : ***Trypanosoma cruzi e doença de Chagas***. Brener Z., Andrade Z.A., Barral-Neto M. Ed. 2^{da} Ed. Guanabara Koogan. Pp 416-423. 2000.
- [16] LEE, B.; BACON, K.M.; BOTTAZZI, M.E.; HOTEZ, P.J. Global economic burden of Chagas disease: a computational simulation model. **Lancet Infect. Dis.** 13 (4): 342-348. 2013.
- [17] MANRIQUE, D.; MANRIQUE, F.; LORCA, M.; OSPINA, J. Prevalencia de anticuerpos para *Trypanosoma cruzi* en caninos de dos municipios endémicos de Boyacá. **MVZ.** 17:2916-2923. 2012.
- [18] MONTENEGRO, V.M.; JIMENEZ, M.; DIAS, J.C.; ZELEDON, R. Chagas disease in dogs from endemic areas of Costa Rica. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 97:491-4. 2002.

- [19] PIFANO, F. La dinámica epidemiológica de la enfermedad de Chagas en el Valle de Los Naranjos, Estado Carabobo, Venezuela. I. Contribución al estudio de los focos naturales silvestres del *Schizotrypanum cruzi* Chagas. **Arch. Venez. Med. Trop. Parasitol. Med.** 5:3-29. 1973.
- [20] REYES, L.; SILESKY, E.; CERDAS, C.; CHINCHILLA, M.; GUERRERO, O. Presencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en perros de Costa Rica. **Parasitol. Latinoam.** 57:66-68. 2002.
- [21] RUEDA, K.; TRUJILLO, J.E.; CARRANZA, J.C.; VALLEJO, G.A. Transmisión oral de *Trypanosoma cruzi*: una nueva situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en Colombia y otros países suramericanos. **Biomed.** 34: 631-641. 2014.
- [22] SHADOMY, S.V.; WARING, S.C.; MARTINS-FILHO, O.A.; OLIVEIRA, R.C.; CHAPPELL, C.L. Combined use of enzyme-linked immunosorbent assay and flow cytometry to detect antibodies to *Trypanosoma cruzi* in domestic canines in Texas. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.** 11:313-319. 2004.
- [23] TURRIAGO, B.; VALLEJO, G.; GULH, F. Seroprevalencia de *Trypanosoma cruzi* en perros de dos áreas endémicas de Colombia. **Rev. Fac. Med.** 16:3-8. 2008.
- [24] URBINA, J.A. Recent clinical trials for the etiological treatment of chronic Chagas disease: Advances, challenges and perspectives. **J. Eukar. Microbiol.** 62: 149-156.2015.
- [25] WENDEL, S.; DIAS, J.C.P. Transfusion transmitted Chagas disease. In: **Chagas disease (American trypanosomiasis): its impact on transfusion and clinical medicine.** Wendel, S., Brener, Z., Camargo, M.E., Rassi, A.(Eds). ISBT Brazil'92. São Paulo, Brazil. Pp 103-133. 1992.
- [26] ZELEDON, R.; SOLANO, G.; ZÚÑIGA, A.; SWARTZWELDER, J. C. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811). III. Habitat and blood sources. **J. Med. Entomol.** 10: 363-370. 1973.