

Trypanosoma rangeli: Lo que se conoce y el impacto de su presencia

Astrid Johana Mejía Meneses, Biol*
María Teresa Paláu Castaño, PhD**
Claudio Antonio Zúñiga Martí, PhD***

Resumen

El parásito *Trypanosoma rangeli*, protozoo de la familia Trypanosomatidae, se considera no patógeno para el hospedero vertebrado; sin embargo, en las poblaciones del insecto vector produce efectos patogénicos que desencadenan en la muerte de los triatomíneos infectados. Este hemoflagelado comparte con *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la enfermedad de Chagas, características biológicas e inmunológicas tales como la distribución geográfica, los reservorios, vectores, hospederos vertebrados y determinantes antigénicos. Por esta razón es una fuente de confusión en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas y debe ser considerado como un parásito de importancia médica. A pesar de lo anteriormente mencionado, el conocimiento sobre *T. rangeli* es muy poco y fragmentado en sus aspectos bioquímicos, inmunológicos y moleculares. En este artículo se presenta una revisión de características biológicas de este parásito con el fin de enfatizar y estimular la investigación dándole la importancia que se merece. [Mejía AJ, Paláu MT, Zúñiga CM. *Trypanosoma rangeli*: Lo que se conoce y el impacto de su presencia. MedUNAB 2004; 7:166-71]

Palabras clave: *Trypanosoma rangeli*, *Trypanosoma cruzi*, relación parásito-vector, relación parásito-hospedero, patogenicidad.

Introducción

El parásito *Trypanosoma rangeli* se considera no patógeno para el hospedero vertebrado, incluyendo al humano, pero sí lo es para el insecto vector, causándole a largo plazo la muerte, por la obstrucción que le produce en las glándulas salivares y la dificultad para obtener la suficiente ingesta de sangre, que le impide llevar a cabo las mudas en sus diferentes estadios del desarrollo.

Por otro lado, el parásito *Trypanosoma cruzi* es el agente etiológico de la enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana, patología que afecta entre 16 a 18 millones de personas en Sur y Centroamérica, principalmente en áreas rurales.¹

Trypanosoma rangeli presenta una distribución geográfica que se superpone con la de *T. cruzi*, compartiendo en muchos casos el mismo insecto vector y también reservorios comunes, lo que conlleva a la ocurrencia de infecciones mixtas tanto en los vectores como en los hospederos vertebrados.² *T. rangeli* representa interés médico como posible fuente de confusión en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas por la reactividad cruzada con *T. cruzi*, debido a que ambos parásitos poseen antígenos comunes.

Este parásito también es tema de interés en el campo de la investigación biológica, ya que actualmente se le considera como buen inmunógeno en la inducción de la respuesta inmune;^{3,4} además, *T. rangeli* ha sido utilizado en estudios de protección frente a la infección con cepas virulentas de *T. cruzi* en modelo murino, mostrando resultados positivos en cuanto a una mayor supervivencia y menor daño tisular en los ratones re infectados, comparados con los

* Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

** Profesor, Facultad de Veterinaria, Universidad Mayor, Santiago, Chile.

*** Profesor, Unidad de Inmunología, Departamento de Medicina Preventiva, Facultad de Veterinaria, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Correspondencia: Astrid Johana Mejía, Apartado Aéreo 31319, Bogotá, Colombia. E-mail: johanammejia@yahoo.com

Artículo recibido: 25 de septiembre de 2004; aceptado 24 de noviembre de 2004.

animales solamente infectados con la cepa virulenta de *T. cruzi*. Estos resultados muestran que la presencia de *T. rangeli* en infecciones mixtas induce un cambio en el perfil de la manifestación de infección-enfermedad en el hospedero vertebrado.⁵⁻⁸

Descripción y ciclo biológico en el vector

A pesar de ser no patógeno para los mamíferos, *T. rangeli* produce efectos patogénicos en el hospedero invertebrado, tales como dificultades en la muda, desarrollo retardado de las ninfas y una alta mortalidad provocada por la invasión del parásito a las glándulas salivares, ya que éstas son los órganos donde el parásito finalmente se ubica después de su transformación. De las doce especies conocidas del género *Rhodnius sp*, nueve son capaces de transmitir o ser vectores de *T. rangeli* bajo condiciones naturales o experimentales.²

En condiciones naturales, el triatomíneo toma sangre de animales reservorios infectados y las formas tripomastigotas se transforman a epimastigotas en la parte media del tracto digestivo. Hecker y colaboradores demostraron que *T. rangeli* invade la hemolinfa pasando a través del epitelio del intestino utilizando una ruta intracelular dentro de una vacuola parasitófora.⁹ Una vez en la hemolinfa, el parásito puede ser reconocido al activar el sistema de defensa del vector del cual se escapa, luego alcanza las glándulas salivares donde completa su metaciclogénesis.¹⁰ Para lograr la transformación completa hasta tripomastigotes metacíclicos ciento por ciento infectivos en las glándulas salivares, el parásito se une a la superficie de éstas, por medio de ciertos carbohidratos específicos con residuos de N-acetil-glucosamina, manosa, N-acetil-galactosamina y fucosa, los cuales le sirven de receptores.¹¹ Cabe anotar que no existen tripomastigotes metacíclicos de *T. rangeli* en el intestino del insecto vector,¹² solamente existen estas formas infectivas en la hemolinfa y glándulas salivares del triatomíneo, evento biológico que marca una diferencia importante con *T. cruzi*.

En cuanto a las enzimas se han descrito sialidasas para *T. rangeli* con un peso molecular aproximado de 58 kDa, que carecen de actividad trans-sialidasa. Algunos autores han encontrado que la actividad sialidasa de las enzimas de *T. cruzi* y *T. rangeli* es similar, pero difieren en el pH al cual presentan una actividad óptima; de esta manera la enzima de *T. rangeli* es más eficiente a pH bajo, alrededor de 5 mientras, que la de *T. cruzi* es más activa a un pH neutro. La función de la sialidasa de *T. rangeli* aún no se conoce, pero se piensa que puede estar involucrada en el desarrollo del parásito en el insecto vector y puede constituir un factor potencial específico del parásito. Se discute que aunque las enzimas de *T. cruzi* y *T. rangeli* son antigénicamente diferentes, están estructuralmente

relacionadas y presentan una especificidad de sustrato similar.^{13, 14}

El diferente grado de susceptibilidad que se muestra en los resultados de estudios con vectores, reconfirma la existencia de una compleja relación parásito-vector y que la habilidad de *T. rangeli* para llegar a la hemolinfa y glándulas salivares depende de la cepa del parásito y también de la especie de triatomíneo involucrado en la transmisión de la enfermedad.²

Es conocido que en el género *Rhodnius sp*, al menos cinco componentes en la hemolinfa del sistema de defensa pueden estar relacionados con las interacciones vector-parásito; estos incluyen la lisozima y otros factores antibacteriales, las aglutininas, la cascada de pro-fenoloxidasa (proPO) y la formación de nódulos que promueven la fagocitosis.¹⁵

La fenoloxidasa (PO), es una enzima que está involucrada en la oxidación de fenoles a quinonas tóxicas, las cuales son responsables de los procesos de melanización en los insectos que permiten el encapsulamiento de patógenos, la esclerotización de la cutícula y la reparación de heridas. La proPO es la precursora inactiva de la PO y se encuentra en la hemolinfa o en los hemocitos y puede activarse por proteasas o patógenos.¹⁰

Se ha demostrado *in vitro* que la susceptibilidad de *Rhodnius prolixus* (*R. prolixus*) a la infección por *T. rangeli*, está relacionada con la supresión del sistema proPO, por parte del parásito, ya que la carencia de esta cascada aumenta el número de flagelados observados. Además la inoculación experimental de *R. prolixus* con los parásitos *T. rangeli* y *T. cruzi* han resultado en la viabilidad y multiplicación del primero, mostrando un aumento gradual en el número de hemocitos en el insecto y una rápida eliminación del segundo, que parece estar relacionada con la formación de nódulos en la hemolinfa. Estos resultados sugieren que *T. cruzi* es rápidamente reconocido por las defensas celulares del insecto y removido de la circulación mientras que aunque *T. rangeli* es reconocido y atrapado dentro de los hemocitos, es capaz de sobrevivir y utilizar estas células para su propia multiplicación.¹⁶

En cuanto a la morfología el gran pleomorfismo que presenta *T. rangeli* en su hospedero invertebrado, hace difícil muchas veces distinguirlo de *T. cruzi* (Figura 1) basándose solamente en la morfología.¹⁷ Sin embargo, en heces del triatomíneo se encuentran formas metacíclicas infectivas de *T. cruzi* y algunas veces se pueden encontrar formas epimastigotes de *T. rangeli*, pero no metacíclicas de este parásito, mientras que en hemolinfa se encuentran epimastigotas y metacíclicas tempranas y tardías de *T. rangeli* (Figura 2) y en las glándulas salivares siempre se encuentran las metacíclicas muy infectivas de *T. rangeli* y nunca de *T. cruzi*.¹⁸



Figura 1. *Trypanosoma cruzi* (cepa SA), tripomastigotes metacíclicos procedentes de células VERO infectadas *in vitro*. Giemsa, 100X (Paláu C, Mejía M, Zúñiga M, foto elaborada en el INS, Bogotá).



Figura 2. *Trypanosoma rangeli* (cepa Choachi-2V). Se observan dos tripomastigotes y un epimastigote. Aislados de hemolinfa de *Rhodnius prolixus* infectado experimentalmente. Giemsa, 100X (Paláu C, Mejía M, Zúñiga M, foto elaborada en el INS, Bogotá).

Ciclo de vida en el hospedero vertebrado

Aunque se han encontrado formas de *T. rangeli* en sangre de humanos y en varias especies animales silvestres y domésticas, el ciclo de vida en el hospedero vertebrado sigue sin ser aclarado y los informes en la literatura son escasos y controversiales.¹⁹ Se le ha encontrado circulando en sangre en su forma de tripomastigote, sin embargo no se ha podido encontrar células infectadas *in vivo* con este parásito, aunque en experimentos de infección celular *in vitro* sí ha sido posible observar las formas intracelulares del parásito.^{18,20,21} Algunos autores han evidenciado ausencia de multiplicación de *T. rangeli in vitro* en diferentes líneas celulares.^{22, 23} Sin embargo, otros autores, como Zúñiga y colaboradores, han informado la presencia de

parásitos intracelulares y su multiplicación en la línea celular VERO de una cepa colombiana de *T. rangeli*.²¹

Algunos autores han pretendido dilucidar el estado biológico y fisiológico de este parásito en el hospedero vertebrado e invertebrado y es así como se ha informado que *T. rangeli* puede multiplicarse como tripomastigote en el torrente sanguíneo pero no como amastigote intracelular. Además afirman que las metacíclicas infectivas en el insecto vector se desarrollan únicamente en hemolinfa y glándulas salivares pudiéndose encontrar formas epimastigotas no infectivas en el intestino.²⁴ En un estudio de Eger-Mangrich y colaboradores, usando tres líneas celulares diferentes, se encontró que los parásitos de *T. rangeli* se localizaban dentro de vacuolas, observándose pocas formas intracelulares por célula infectada y en general tasas de infección bajas.¹⁹

El bajo porcentaje de *T. rangeli* en células del hospedero mamífero, como es de esperar que ocurra, tal vez está relacionado con el costo evolutivo que ha tenido que pagar este parásito y probablemente tenga alguna relación con la pérdida de la neuroaminidasa de membrana, la cual aparentemente está involucrada en el paso del parásito a través de la hemolinfa del vector y también comprometida en la invasión de las células del vertebrado mamífero por parte de *T. cruzi*.²⁵

Igualmente se ha encontrado que el mantenimiento del parásito por pases consecutivos en cultivo axénico disminuye la infectividad. Además se han realizado estudios de microscopía electrónica con parásitos en estadio de tripomastigotes provenientes de cultivo de células que sobrevivieron por 7 días a 37°C y se ha observado que el kinetoplasto presenta configuración de "basket-like", lo cual es característico de los tripomastigotes de *T. cruzi*. Entonces se podría especular que si los tripomastigotes de los cultivos celulares fueran semejantes a los sanguíneos, el tripomastigote sanguíneo de *T. rangeli* aunque no pudiera proliferar sí podría sobrevivir al menos dos o tres semanas en la sangre.²³

Hasta el momento existe controversia en los hallazgos obtenidos con *T. rangeli* con relación a si se multiplica o no dentro de las células del hospedero vertebrado. Al parecer las características biológicas y la fuente de obtención, cultivo axénico o hemolinfa y glándula, de cada cepa de *T. rangeli* tienen mucho que ver en el comportamiento en infecciones celulares *in vitro* como se ha encontrado en observaciones experimentales en el Instituto Nacional de Salud de Colombia (datos no publicados).

Relación filogenética entre *T. rangeli* y *T. cruzi*

En ausencia de evidencia paleontológica, la historia del orden kinetoplastida ha sido reconstruida a partir de

estudios comparativos de la morfología, los ciclos de vida y la distribución de los hospederos.^{26, 27}

Teniendo en cuenta evidencias y estudios recientes es posible demostrar el origen monofilético de Trypanosomatidae; de esta manera un flagelado ancestral de las plantas o de un insecto pasó a los mamíferos cuando éste fue ingerido por un marsupial omnívoro, migrando a sus glándulas anales. En este tipo de hipótesis tenemos un parásito primitivo asociado con un marsupial, los tripanosomátidos probablemente se transmitían directamente entre los reservorios actuales a través de las secreciones de las glándulas anales y la orina, tal como lo ha enunciado Deane.²⁸

Una posterior adaptación a la forma sanguínea, pudo surgir cuando el parásito fue capaz de transmitirse con ayuda de un insecto hematófago. Así, algunos insectos predadores del orden Reduviidae, desarrollaron la capacidad de tomar sangre de los mamíferos, lo cual permitió que *Trypanosoma sp* primitivo pudiera dispersarse a otros hospederos tales como ratones, armadillos y murciélagos.²⁹

Por otro lado, la posición taxonómica y las relaciones evolutivas de *T. rangeli* con *T. cruzi* son controversiales y aún no se han podido dilucidar completamente. Al nivel de morfología y comportamiento, *T. rangeli* es clasificado dentro del subgénero Herpetosoma, pero caracterizaciones bioquímicas usando diferentes marcadores han permitido concluir que la ruta de transmisión que en un principio fue utilizada para la clasificación, actualmente, no tiene ningún tipo de validez y es un carácter con poca importancia evolutiva.²⁴

Análisis filogenéticos basados en secuencias de ssrRNA de diferentes cepas de *T. rangeli* han permitido concluir que existe una estrecha relación evolutiva entre *T. rangeli* y *T. cruzi*, ubicándolo dentro del denominado “clade” *T. cruzi*, donde se encuentran otras especies de *Typanosomas sp* de murciélagos, de mamíferos de Suramérica y algunas otras especies no identificadas en canguros australianos. A pesar de encontrarse en el mismo “clade”, las distancias genéticas entre *T. cruzi* y *T. rangeli* son las más grandes, presentando las diferencias más altas de apareamiento de las secuencias de ssrRNA, lo cual está en concordancia con las diferencias en la morfología y ciclos de vida de estos dos parásitos.²⁴⁻²⁷

Características bioquímicas y antigénicas

Trypanosoma rangeli y *Trypanosoma cruzi* presentan epítopes comunes en sus antígenos y se ha demostrado una similitud antigénica del 60% por numerosos investigadores utilizando diferentes técnicas tales como ELISA, inmunofluorescencia indirecta (IFI), inmunotransferencia y doble inmunodifusión.³⁰⁻³² En ambos parásitos se han

descrito bandas antigénicas con diferente migración electroforética que simultáneamente muestran determinantes antigénicos comunes.³³

A pesar de la alta similitud que existen entre estas dos especies, se han logrado diferenciar infecciones por *T. cruzi* y *T. rangeli* en ratones^{34, 35} y humanos³⁰ indicando la presencia de antígenos específicos de especie. En el caso *T. rangeli* se ha descrito e identificado una proteína de 48kDa localizada en el citoplasma del parásito como específica de especie.^{36, 37}

A pesar de sus características no patogénicas para el hospedero vertebrado, las infecciones con *T. rangeli* inducen una respuesta inmune humoral que resulta en niveles altos de anticuerpos. La reacción cruzada con *T. cruzi* en ensayos serológicos se debe a la alta similitud entre sus antígenos de superficie.³⁸

Las distorsiones en la serología de la enfermedad de Chagas, la inmunomodulación de la infección y la modificación de la capacidad del parásito *T. cruzi* de adherirse y penetrar a las células, son probablemente consecuencias de una exposición natural a moléculas de *T. rangeli*.³⁹ Es probable entonces que, sumado a los factores de inmunidad celular, *T. rangeli* desencadene otras respuestas que induzcan el establecimiento de una memoria inmunológica que reaccione en forma “cruzada” con determinantes antigénicos de *T. cruzi* en la reinfección (datos no publicados).

Por lo tanto la identificación, caracterización y purificación de proteínas de las poblaciones parasitarias de *T. cruzi* y *T. rangeli*, constituyen un paso fundamental para conocer cuáles son los antígenos involucrados que inducen en cada caso la respuesta del hospedero, al igual que contribuirían al diagnóstico de falsos positivos en la infección chagásica.

Caracterización genética molecular

En la caracterización de las cepas de *T. rangeli* y su diferenciación con *T. cruzi* se han utilizado métodos bioquímicos, inmunológicos y moleculares tales como isoenzimas, aglutinación por lectinas, anticuerpos monoclonales, PCR y electroforesis en gel de campo pulsado, que han permitido un acercamiento al conocimiento de este protozoo.⁴⁰⁻⁴⁴

Entre algunos de los estudios recientes a nivel molecular de *T. rangeli* es importante mencionar el realizado por Vallejo y colaboradores, en el cual se plantea que el insecto vector del género *Rhodnius sp* es susceptible a la infección por cepas de *T. rangeli* KP1(-) ó KP1(+) que luego transmite por inoculación al hospedero vertebrado. Estas dos subpoblaciones de *T. rangeli* se clasifican con base en la presencia o ausencia de un producto de amplificación de un minicírculo del DNA del kinetoplasto denominado KP1.⁴⁵

En comparación con algunas especies del género *Trypanosoma sp.*, la biología y en especial el genoma de *T. rangeli* es aún desconocido, solamente un pequeño número de genes y secuencias de nucleótidos (68) y proteínas (42) se han caracterizado y se encuentran registradas en el GenBank.⁴⁶ Sin embargo bajo el auspicio de CNPq y la Agencia de Gobierno del Brasil, se ha comenzado a trabajar en el Proyecto EST *Trypanosoma rangeli*, el cual tiene como objetivo obtener información del genoma del parásito, lo cual más adelante permitiría realizar estudios de taxonomía y filogenia del parásito.⁴⁶

Conclusión

Los autores consideramos necesario unir esfuerzos y continuar la investigación que involucre los parásitos *T. rangeli* y *T. cruzi* considerándolos en sus aspectos biológicos y médicos, con el fin de dilucidar completamente la interacción de estos dos parásitos tanto en el insecto vector como en el hospedero vertebrado. Así como también el posible efecto protector que podría brindar *T. rangeli* en las infecciones mixtas, debido a la alta similitud antigénica con *T. cruzi* y a varios factores que desencadenan la respuesta inmune humoral y celular.

Los trabajos realizados con las diferentes poblaciones del parásito *T. cruzi* muestran amplia variabilidad genética la cual se traduce en diferentes manifestaciones clínicas en su hospedero vertebrado. La presencia de *T. rangeli* parece que puede inducir un efecto de protección lo cual conduce a disminuir la severidad de las manifestaciones clínicas presentadas en la enfermedad de Chagas, como probablemente ocurre en países como Colombia donde coexisten ambos parásitos y esta enfermedad generalmente presenta una expresión más moderada comparado con lo que ocurre en países del cono sur como Chile donde existe *T. cruzi* pero no *T. rangeli*.

La perspectiva de la investigación con *T. rangeli* muestra una amplia gama de posibilidades que pueden conducir a dilucidar factores desconocidos en la patología de la enfermedad de Chagas.

Summary

Trypanosoma rangeli: What we know about it and the impact of its appearance. *Trypanosoma rangeli* is a protozoan parasite belonging to the Trypanosomatidae family and, generally, is not considered a pathogenic for a vertebrate host. However, *T. rangeli* produces pathogenic effects for insect vector populations that sometimes causes the death of infected triatomidae. This hemoflagellate shares with *Trypanosoma cruzi*, the etiological agent of Chagas' disease, immunochemical and biological characteristics such as geographical distribution, animal reservoirs, vectors, vertebrate hosts and antigenic determinants. This is one of the reasons

for a great deal of confusion, when we diagnose Chagas' disease. Therefore, we should consider this parasite as an important one for medical research. However, despite of the above, we accept the fact that our knowledge about *T. rangeli* is quite limited, basically regarding its biochemical, immunological and molecular characteristics. In this article we review several biological characteristics of *T. rangeli*, in order to motivate more extensive research on this important parasite as a medical tool.

Key words: *Trypanosoma rangeli*, *Trypanosoma cruzi*, parasite-vector relationship, parasite-host relationship, pathogenicity.

Referencias

1. World Health Organization. Control of tropical disease. Chagas' disease. A disease whose days are numbered. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 1996.
2. Machado PE, Eger-Mangrich IR, Koerich G, Grisard LB, Steindel M. Differential susceptibility of triatomines of the genus *Rhodnius* to *Trypanosoma rangeli* strains from different geographical origins. *Int J Parasitol* 2001; 31:632-4.
3. Saldaña A, Sousa E. Diferencias y similitudes antigénicas entre *Trypanosoma rangeli* y *Trypanosoma cruzi*. *Rev Asoc Guatemal Parasitol. Med Trop* 1991; 6:68-9.
4. Saldaña A, Örn A, Henriksson J, Sousa O. Evaluación de cuatro métodos inmunobioquímicos/moleculares en la identificación de cepas de *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma rangeli*. *Rev Méd (Panamá)* 1993; 18:41-52.
5. Zúñiga CA, Paláu MT, Penin P, Gamallo C, de Diego JA. Protective effect of *Trypanosoma rangeli*: against infection with highly virulent strain of *Trypanosoma cruzi*. *Trop Med Int Health* 1997; 5:482-7.
6. Cárdenas ME, Marinkelle CJ. Reactividad cruzada entre *Trypanosoma rangeli* y *Trypanosoma cruzi* y su posible papel protector en una infección chagásica en ratones. *MedUNAB* 1998; 1: 14-21.
7. Introini M, Basso B, Moretti E. Enfermedad de Chagas experimental: I. Estudio de diferentes condiciones de inmunización sobre el curso de la infección. *Bol Chil Parasitol* 1998; 53:45-51.
8. Paláu MT, Mejía MT, mejía AJ, Vergara U, Zúñiga CA. Action of *Trypanosoma rangeli* in infections with virulent *Trypanosoma cruzi* populations. *Mem Instit Oswaldo Cruz* 2003; 98:543-8.
9. Hecker H, Schwarzenbach M, Rudin W. Development and interactions of *Trypanosoma rangeli* in and with reduviid bug *Rhodnius prolixus*. *Parasitol Res* 1990; 76:311-8.
10. Gomes SAO, Feder D, Thomas NES, García ES, Azambuja P. *Rhodnius prolixus* infected with *Trypanosoma rangeli*: In vivo and in vitro experiments. *J Invert Pathol* 1999; 73:289-93.
11. Basseri HR, Tew IF, Ratcliffe NA. Identification and distribution of carbohydrate moieties on the salivary glands of *Rhodnius prolixus* and their possible involvement in attachment/invasion by *Trypanosoma rangeli*. *Exp Parasitol* 2002; 100:226-34.
12. Cuba-Cuba CA. Revisión de los aspectos biológicos y diagnósticos del *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli*. *Rev Soc Med Trop (Brasil)* 1998; 31:207-220.
13. Pontes de Carvalho LC, Tomlinson S, Nussenzweig V. *Trypanosoma rangeli* sialidase lacks trans-sialidase activity. *Mol Biochem Parasitol* 1993; 62:19-22.

14. Medina-Acosta E, Franco AM, Janzsen AM, Sampol M, Neves N, Pontes de Carvalho L, et al. Transialidase and sialidase activities discriminate between morphologically indistinguishable trypanosomatids. *Eur J Biochem* 1994; 225:333-9.
15. Azambuja P, García ES, Rarcliffe NA, Warthen JD. Immune-depression in *Rhodnius prolixus* induced by the growth inhibitor, azadirachtin. *J Insect Physiol* 1991; 37:771-7.
16. Mello CB, García ES, Ratcliffe NA, Azambuja P. *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*: Interplay with hemolymph components of *Rhodnius prolixus*. *J Invert Pathol* 1995; 65:261-8.
17. Urdaneta-Morales S, Tejero F. *Trypanosoma rangeli* (Tejera, 1920): observations upon pleomorphism. *Mem Instit Oswaldo Cruz* 1992; 87:511-6.
18. Paláu MT, Montilla M, Zúñiga CA. Estudio del comportamiento de dos cepas de *Trypanosoma rangeli*. *MedUNAB* 2001; 4: 166-72.
19. Eger-Mangrich I, De Oliveira MA, Grisard E, De Souza W, Steindel M. Interaction of *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920 with different cell lines in vitro. *Parasitol Res* 2001; 87:505-9.
20. Osorio Y, Travi BL, Palma GI, Saravia NG. Infectivity of *Trypanosoma rangeli* in a promonocytic mammalian cell line. *J Parasitol* 1995; 81:687-93.
21. Zúñiga C, Paláu MT, Penin P, Gamallo C, De Diego JA. Characterization of a *Trypanosoma rangeli* strain of Colombian origin. *Mem Instit Oswaldo Cruz* 1997; 92:523-30.
22. Molyneux D. Division of the human trypanosome, *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli*. *Ann Trop Med Parasitol* 1973; 67:371-2.
23. Tanouraka K, Yanagi T, Matta de García V, Kanbara H. *Trypanosoma rangeli* – In vitro metacyclogenesis and fate of metacyclic trypomastigotes after infection to mice and fibroblast cultures. *J Euk Microbiol* 1989; 46:43-8.
24. Stevens JR, Texeira MMG, Bingle LEH, Gibson WC. The taxonomic position and evolutionary relationships of *Trypanosoma rangeli*. *Int J Parasitol* 1999; 29:749-57.
25. D'Alessandro A, Saravia NG. *Trypanosoma rangeli*. In: Kreier JP, Baker JR (eds). *Parasitic protozoa*. Academic Press, San Diego, vol. 2, 1992:1-54.
26. Vickerman K The evolutionary expansion of Trypanosomatid flagellates. *Int J Parasitol* 1994; 24:1117-31.
27. Stevens JR, Noyes HA, Schofield CJ, Gibson W. The molecular evolution of Trypanosomatidae. *Adv Parasitol* 2001; 48:1-56.
28. Deane MP, Lenzi HL, Jansen AM. *Trypanosoma cruzi*: vertebrate and invertebrate cycles in the same mammal host, the opossum *Didelphis marsupialis*. *Mem Instit Oswaldo Cruz* 1984; 79:513-5.
29. Schofield CJ. *Trypanosoma cruzi* – The vector-parasite paradox. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2000; 95:535-44.
30. Grogil M, Kuhn E. Identification of antigens of culture forms of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* recognized by sera from patients with chronic Chagas' disease. *J Parasitol* 1984; 70:822-4.
31. Basso B, Moretti E, Fontenla S, Vottero-Cima E. *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* and *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli*. II. Overlapping of antigenic spectrum. *Rev Latinoam Microbiol* 1989; 31:141-6.
32. O'Daly J, Carrasco H, Fernández V, Rodríguez M. Comparison of chagasic and non-chagasic myocardopathies by ELISA and immunoblotting with antigens of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*. *Acta Tropica* 1994; 56:265-87.
33. Saldaña A, Örn A, Henriksson J, Sousa OE. Evaluación de cuatro métodos inmunobioquímico/moleculares en la identificación de las cepas de *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma rangeli*. *Rev Méd (Panamá)* 1992; 18:41-52.
34. Anthony R, Cody T, Constantine N. Antigenic differentiation of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* by means of monoclonal-hybridoma antibodies. *Am J Trop Med Hyg* 1981; 30:1192-7.
35. Tarleton R, Schulz C, Grogil M, Kuhn R. Diagnosis of Chagas' disease using a biotin-3H-avidin radioimmunoassay. *Am J Trop Med Hyg* 1984; 33:34-40.
36. Saldaña A, Harris RA, Örn A, Sousa OE. *Trypanosoma rangeli*: Identification and purification of a 48-kDa-specific antigen. *J Parasitol* 1998; 84:67-73.
37. Mejía AJ. Comparación de proteínas entre *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma rangeli*. Tesis, Universidad Nacional de Colombia, 2003.
38. Grisard EC, Steindel M, Guarneri AA, Eger-Mangrich I, Campbell DA, Roamanha AJ Characterization of *Trypanosoma rangeli* strains isolated in central and south America: an overview. *Mem Instit Oswaldo Cruz* 1999; 94:203-9.
39. Saldaña A Immunobiochemical significance of *Trypanosoma rangeli* in the study of *Trypanosoma cruzi*. PhD Thesis, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden, 1997:120.
40. Ebert F. Isoenzymes of *Trypanosoma rangeli* stocks and their relation to other trypanosomes transmitted by triatomine bugs. *Trop Med Parasitol* 1986; 37:251-4.
41. González JE, Barrios LA, Vallejo GA, Marinkelle CJ, Gulh F. Nuevas fuentes de lectinas para la diferenciación entre *Trypanosoma cruzi* y *T. rangeli*. *Rev Bras Biol* 1996; 56:627-37.
42. Steindel M, Dias-Neto E, Carvalho CJ, Grisard E, Menezes C, Murta SM, et al. Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) and isoenzyme analysis of *Trypanosoma rangeli* strains. *J Euk Microbiol* 1994; 1:261-7.
43. Triana O, Jaramillo N, Moreno J. Genetic variability of Colombian populations of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli*. *Biol Res* 1999; 32:1-10.
44. Acosta L, Romanha AJ, Cosenza H, Krettli AU. Trypanosomatid isolated from Honduras: Differentiation between *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*. *Am J Trop Med Hyg* 1991; 44: 676-83.
45. Vallejo GA, Guhl F, Carranza JC, Lozano LE, Sánchez JL, Jaramillo JC, et al. kDNA markers define two major *Trypanosoma rangeli* lineages in Latin-America. *Acta Tropica* 2002; 81:77-82.
46. Snoijer C, Picchi GF, Dambros BP, Steindel M, Goldenberg S, Frago SO, et al. *Trypanosoma rangeli* Transcriptome Project: Generation and analysis of expressed sequence tags. *Kinetoplastid Biol Dis* 2004; 3:1.