



**Títol del Treball:**

**Diversitat genètica de *Trypanosoma cruzi* als Estats Units d'Amèrica**

Estudiant: Arnau Llovera Mascorda

Correu electrònic: lloverarnau@gmail.com

Grau en: Biologia

Tutora: Alba Abras Feliu

Correu electrònic: alba.abras@udg.edu

Data de dipòsit de la memòria a través de la plataforma de TFG: 03/07/2023

## ÍNDIX

<b>RESUM</b> .....	<b><i>i</i></b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b><i>ii</i></b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b><i>iii</i></b>
<b>REFLEXIÓ SOBRE ÈTICA</b> .....	<b><i>iv</i></b>
<b>REFLEXIÓ SOBRE SOSTENIBILITAT</b> .....	<b><i>iv</i></b>
<b>REFLEXIÓ SOBRE PERSPECTIVA DE GÈNERE</b> .....	<b><i>iv</i></b>
<b>1. INTRODUCCIÓ</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2. El paràsit <i>Trypanosoma cruzi</i></b> .....	<b>1</b>
1.2.2. Diversitat genètica.....	3
<b>1.3. La malaltia de Chagas</b> .....	<b>4</b>
1.3.1. Simptomatologia .....	4
1.3.2. Diagnòstic i tractament .....	5
1.3.3. Distribució geogràfica.....	5
<b>2. AIM</b> .....	<b>6</b>
<b>3. MATERIAL I MÈTODES</b> .....	<b>7</b>
<b>4. RESULTATS I DISCUSSIÓ</b> .....	<b>7</b>
<b>4.1. Resultats de la cerca</b> .....	<b>7</b>
<b>4.2. Anàlisi dels articles seleccionats</b> .....	<b>8</b>
<b>4.3. Diversitat dins de TcI</b> .....	<b>13</b>
<b>4.4. El cas de TcIV-EUA</b> .....	<b>13</b>
<b>4.5. Múltiples haplotips</b> .....	<b>14</b>
<b>4.6. <i>Trypanosoma cruzi</i> en hostes humans als EUA</b> .....	<b>14</b>
<b>4.7. UDTs trobades als EUA</b> .....	<b>15</b>
4.7.1. UDTs trobades en vectors als EUA.....	15
4.7.2. UDTs trobades en hostes i comparativa amb vectors .....	16
<b>4.8. Distribució geogràfica de la diversitat genètica de <i>T. cruzi</i> dins els EUA</b> .....	<b>18</b>
<b>4.9. Consideracions finals</b> .....	<b>20</b>
<b>5. CONCLUSIONS</b> .....	<b>20</b>
<b>6. AGRAÏMENTS</b> .....	<b>20</b>
<b>7. BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>21</b>

## RESUM

*Trypanosoma cruzi*, un protozou paràsit flagel·lat, és l'agent causal de la malaltia de Chagas. La infecció té un origen zoonòtic vectorial i inicialment estava lligada a les zones rurals d'Amèrica Llatina, d'on n'és endèmica, però els fluxos migratoris d'humans han fet que les persones infectades estiguin avui en dia presents arreu del planeta. Actualment, l'Organització Mundial de la Salut estima que hi ha entre sis i set milions de persones infectades per *T. cruzi*. Els Estats Units d'Amèrica (EUA) és un cas especial ja que, tot i ser considerat un país no endèmic per la malaltia de Chagas, als estats del sud hi ha presència de *T. cruzi* en diverses espècies de mamífers circulant dins d'un cicle enzoòtic. No obstant, històricament no ha passat a establir-se en humans més enllà de casos puntuals. La diversitat genètica d'aquest paràsit està classificada en les anomenades Unitats Discretes de Tipificació (UDTs). Hi ha sis UDTs diferents, rebent la nomenclatura de TcI fins a TcVI. Més recentment, s'ha postulat una setena UDT, amb el nom provisional de Tcbat, pel fet que s'ha aïllat en rat-penats. Les UDTs tenen diferents distribucions geogràfiques. Tot i que hi ha coneixement previ que indica que les UDTs presents als EUA són TcI i TcIV, l'objectiu d'aquest treball és fer una anàlisi exhaustiva de les UDTs trobades al país per tal de tenir més detall de quina és la diversitat genètica de *T. cruzi* als EUA.

Per aquest propòsit, es va fer una cerca bibliogràfica a través del portal *Web of Science* amb les paraules clau "*Trypanosoma cruzi*" combinades amb "*United States*", "*gen\* diversity*", "*USA*" i "*discrete typing unit*". Es van incloure tots els resultats fins a la data de cerca i es van tenir en compte totes les entrades classificades com a articles o articles de revisió dins de l'apartat *Document Types*. Seguidament, es va procedir a la lectura del títol i el resum dels articles obtinguts i, en cas de dubte, també del seu contingut per tal de seleccionar-los o descartar-los, obtenint una llista final de 24 articles.

Mitjançant la lectura de la bibliografia seleccionada es van poder recopilar les dades dels treballs en conjunt, obtenint com a resultat total 1160 UDTs individuals trobades en triatòmins i 289 trobades en hostes. Els resultats conjunts mostren com realment TcI i TcIV són les UDTs amb major presència al país, essent TcI la que presenta major proporció. Tot i això, també hi ha presència de TcII, TcV, TcVI en percentatges molt menors.

## RESUMEN

*Trypanosoma cruzi*, un protozoo parásito flagelado, es el agente causal de la enfermedad de Chagas. La infección tiene un origen zoonótico vectorial e inicialmente estaba ligada a las zonas rurales de América Latina, donde es endémica, pero los flujos migratorios han hecho que las personas infectadas estén presentes en todo el planeta en la actualidad. La Organización Mundial de la Salud estima que hay entre seis y siete millones de personas infectadas por *T. cruzi*. Los Estados Unidos de América (EUA) es un caso especial, ya que aun siendo considerado un país no endémico para la enfermedad de Chagas, en los estados del sur hay presencia de *T. cruzi* en varias especies de mamíferos circulando en un ciclo. No obstante, históricamente no ha pasado a establecerse en humanos más allá de casos puntuales. La diversidad genética de este parásito se clasifica en las llamadas Unidades Discretas de Tipificación (UDTs). Hay seis UDTs diferentes, con la nomenclatura TcI hasta TcVI. Recientemente, se ha propuesto una séptima UDT, llamada Tcbat, debido a que fue aislada en murciélagos. Las UDTs tienen diferentes distribuciones geográficas. Aunque hay conocimiento previo que indica que las UDTs presentes en EUA son TcI y TcIV, el objetivo de este estudio es realizar un análisis exhaustivo de las UDTs encontradas en el país para tener más detalles sobre la diversidad genética de *T. cruzi* en los EUA.

Con este propósito, se realizó una búsqueda bibliográfica a través del portal Web of Science con las palabras clave "*Trypanosoma cruzi*" combinadas con "*United States*", "*gen\* diversity*", "*USA*" y "*discrete typing unit*". Se incluyeron todos los resultados hasta la fecha de la búsqueda y se tuvieron en cuenta todas las entradas clasificadas como artículos o artículos de revisión dentro del apartado *Document Types*. A continuación, se procedió a la lectura del título y el resumen de los artículos obtenidos y, en caso de duda, también de su contenido para seleccionarlos o descartarlos, obteniendo una lista final de 24 artículos.

Mediante la lectura de la bibliografía seleccionada, se pudo recopilar los datos de los trabajos en conjunto, obteniendo como resultado total 1160 UDTs individuales encontradas en triatominos y 289 encontradas en hospedadores. Los resultados conjuntos muestran como realmente TcI y TcIV son las UDTs con mayor presencia en el país, siendo TcI la que presenta la mayor proporción. Sin embargo, también hay presencia de TcII, TcV y TcVI en porcentajes mucho menores.

## ABSTRACT

*Trypanosoma cruzi*, a flagellated parasitic protozoan, is the causative agent of Chagas disease. The infection has a zoonotic vectorial origin and was initially linked to rural areas of Latin America, where it is endemic. However, human migratory flows have resulted in infected individuals being present worldwide today. Currently, the World Health Organization (WHO) estimates that there are between six and seven million people infected with *T. cruzi*. The United States of America (USA) is a special case as, even though it is not considered a non-endemic country for Chagas disease, in the southern states there is *T. cruzi* presence in various mammalian species circulating in an enzootic cycle. Nevertheless, historically it has not become established in humans beyond sporadic cases. The genetic diversity of this parasite is classified into Discrete Typing Units (DTUs). There are six different DTUs, designated as TcI to TcVI. More recently, a seventh DTU has been postulated, provisionally named Tcbat, due to its isolation in bats. The DTUs have different geographic distributions. While previous knowledge indicates that the DTUs present in the USA are TcI and TcIV, the objective of this study is to conduct a comprehensive analysis of the DTUs found in the country to gain more detailed information about the genetic diversity of *T. cruzi* in the USA.

For this purpose, a bibliographic search was made through the Web of Science portal using the keywords "*Trypanosoma cruzi*" combined with "United States," "gen\* diversity," "USA," and "discrete typing unit." All results up to the search date were included, and all entries classified as articles or review articles within the *Document Types* section were considered. Subsequently, the titles and abstracts of the obtained articles were read, and in case of doubt, their content was also examined to select or discard them, obtaining a final list of 24 articles.

By reading the selected bibliography, data from the studies were compiled, resulting in a total of 1160 individual DTUs found in triatomines and 289 found in hosts. The combined results reveal that TcI and TcIV are indeed the DTUs with the highest presence in the country, with TcI showing the highest proportion. However, there is also a presence of TcII, TcV, and TcVI in much smaller percentages.

## REFLEXIÓ SOBRE ÈTICA

La malaltia de Chagas, com a una de les 20 malalties tropicals desateses, ha rebut històricament unes atencions insuficients (OMS, 2023). La relació amb la pobresa de les malalties desateses, i aquesta en concret, té unes connotacions ètiques que no es poden passar per alt. Històricament, la major part dels infectats per *Trypanosoma cruzi* han estat persones amb pocs recursos. Per tant, també ho han estat la major part dels casos no tractats, dels casos amb símptomes greus i dels morts. Per altra banda, s'afegeix al fet que símptomes greus com ara la cardiomiopatia poden afectar a la qualitat de vida, cosa que pot repercutir en major càrrega econòmica (Rassi *et al.* 2010).

Tot i que la malaltia segueix lluny d'estar controlada a les zones endèmiques, la situació ha anat millorant durant les últimes dècades. Les mesures preses per frenar-ne l'expansió han permès baixar la xifra d'infectats (Schofield i Dias, 1999). Aquestes dades són positives fins a cert punt. La tendència és cap a la millora, però el nombre d'infectats és alt, i la població en situació de pobresa segueix sent la que es troba en pitjors condicions pel que fa als seus drets humans.

## REFLEXIÓ SOBRE SOSTENIBILITAT

Essent un treball bibliogràfic, no ha estat necessari l'ús de material de laboratori ni s'ha generat cap mena de residu. Pel que fa a la bibliografia, s'ha consultat en format digital, per tant, no ha estat necessària la impressió. D'aquesta manera, s'ha estalviat recursos minimitzant així la contaminació.

## REFLEXIÓ SOBRE PERSPECTIVA DE GÈNERE

Tot i que les dones representen el 53% dels graduats universitaris a escala global, a nivell d'investigació, la xifra es redueix fins a només un 28% (UNESCO, 2015). Això es deu al fet que hi ha un efecte de terra enganxós que dificulta el progrés de les dones en les carreres professionals a l'hora d'arribar a esglaons més alts. S'associen a desigualtats en la divisió de rols associats al gènere, com ara les dificultats per conciliar la maternitat i la feina, discriminacions estructurals, o bretxa salarial. És per això que és necessari incloure una visió de perspectiva de gènere en aquest estudi (Segovia-Saiz *et al.*, 2020).

Pel que fa als articles escollits per aquest treball, que es llisten al punt 4.2, d'entre els 24 seleccionats, hi ha 16 autories diferents que consten com a primers autors. El 68,75% són dones, i el 31,25% homes. Si bé una bona part d'aquests articles estan publicats per dones, cal tenir en compte que aquestes dades no són representatives del conjunt de publicacions científiques existents.

# 1. INTRODUCCIÓ

## 1.1. Aspectes generals i epidemiologia

La malaltia de Chagas rep el seu nom de Carlos Ribeiro Justiniano Chagas, el metge i investigador que la va descobrir l'any 1909 (Rassi *et al.*, 2010). També se la coneix pel nom de Tripanosomiasi Americana degut a l'agent causant de la malaltia: *Trypanosoma cruzi*, un protozou paràsit flagel·lat. La malaltia de Chagas forma part de les 20 malalties tropicals desatenses, NTD (de l'anglès *neglected tropical diseases*) considerades per l'Organització Mundial de la Salut (OMS) (OMS, 2023).

La infecció té un origen zoonòtic vectorial, i inicialment estava lligada a les zones rurals d'Amèrica Llatina, d'on n'és endèmica degut a la presència del vector. Els vectors són insectes de múltiples espècies dins de la subfamília Triatominae, coneguts col·loquialment com a triatòmits, que s'alimenten de la sang de mamífers. Per a la població d'aquestes regions, la malaltia de Chagas ha estat un problema que ha persistit durant mil·lennis; els primers casos demostrats es remunten a fa aproximadament 9000 anys, detectats en mòmies trobades als actuals Xile i Perú. Això suggereix que ja hi havia animals salvatges amb aquesta malaltia quan van arribar-hi els primers humans, que la van començar a contraure per zoonosi (Aufdeheide *et al.*, 2004).

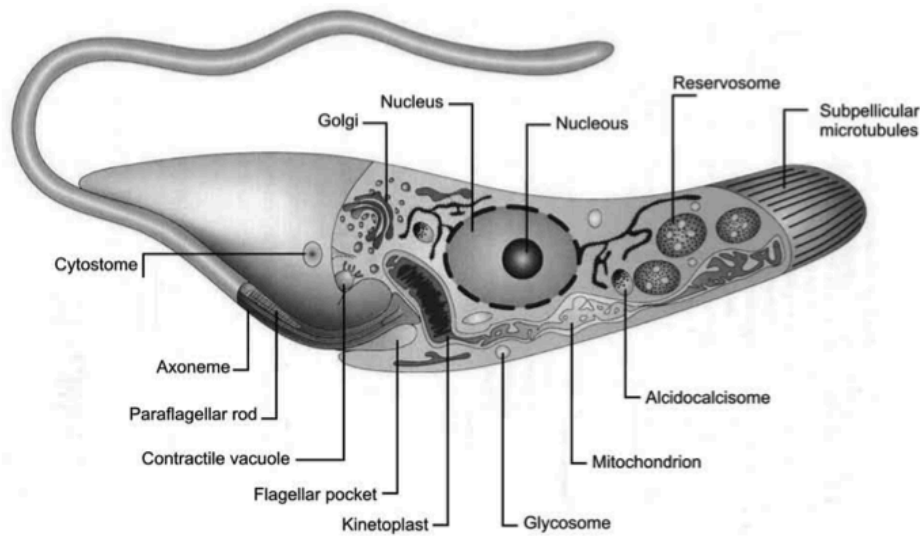
Actualment, l'OMS estima que hi ha entre sis i set milions de persones infectades per *T. cruzi*, la majoria a Amèrica Llatina (OMS 2023). Aquesta xifra entre els anys 1980 i 1985 s'enfilava fins als 17,4 milions i el 2005 era de 7,6 milions (Rasi *et al.*, 2010), per tant ha estat patint una tendència a la baixa. Això ha estat possible gràcies a programes de control de la infecció (Schofield i Dias, 1999).

D'altra banda, més enllà dels humans, la malaltia està estesa en més de 180 espècies de mamífers, tant domèstics com selvàtics; com poden ser gossos, gats, rosegadors i primats, entre d'altres. Aquesta gran diversitat d'hostes fa que es puguin diferenciar tres cicles epidemiològics que s'interrelacionen: el domèstic, el peridomèstic i el selvàtic (Noireau *et al.*, 2009).

## 1.2. El paràsit *Trypanosoma cruzi*

### 1.2.1. Morfologia, cicle vital i vies de transmissió

*Trypanosoma cruzi* pertany a la família Trypanosomatidae, dins de l'ordre Kinetoplastida. Les espècies que formen part d'aquest ordre es caracteritzen per la presència d'un únic mitocondri gegant anomenat quinetoplast, situat a la base del flagel (Figura 1). L'estructura del quinetoplast varia entre les formes evolutives de *T. cruzi* (Moreira, 2004) i s'hi troba el que correspon al genoma mitocondrial del paràsit, anomenat ADN del quinetoplast (ADNk), que comprèn el 15-30% del total de l'ADN cel·lular (Araújo *et al.*, 2009).



**Figura 1.** Esquema de l'estructura organular de *T. cruzi* en forma d'epimastigot (de Souza, 2008).

Existeixen tres formes evolutives diferents de *T. cruzi*: tripomastigots, amastigots i epimastigots (Figura 2) (Rasi *et al.*, 2010). En la via vectorial, quan l'insecte triatomí infectat s'alimenta de sang d'un mamífer, elimina excrements a la superfície de la pell que contenen tripomastigots de *T. cruzi*. Si aquests tripomastigots aconseguen penetrar dins l'organisme a través de la mateixa picada de l'insecte o a través de les mucoses, acabaran sent fagocitats per cèl·lules de l'hoste (Gascon i Pinazo, 2015). No obstant, el paràsit té la capacitat d'escapar del fagosoma i arribar al citoplasma de la cèl·lula. Allà pateix un canvi estructural que fa desaparèixer el flagel·lo lliure i la membrana ondulant, s'arrodoneix la forma i hi ha una reducció de la mida. En aquest punt trobem el paràsit en la forma d'amastigot. En aquesta forma tindran lloc successives divisions binàries i posteriorment els paràsits es tornen a transformar en tripomastigots passant per la fase intermèdia d'epimastigot (intracel·lular i flagel·lada). La cèl·lula llisa i s'alliberen els tripomastigots al torrent sanguini fins a envair una nova cèl·lula on repetir el cicle. Si una persona infectada és picada per un triatomí, aquest podrà ingerir els tripomastigots de la sang. En aquest cas, *T. cruzi* arriba a l'estómac i intestí del triatomí on passa a epimastigot, es dividirà seqüencialment, transformant-se després en la forma tripomastigota, que s'adherirà a l'intestí prim fins a ser expulsat de nou a l'exterior a través de les femtes, reiniciant el cicle (Vianna, 2012).

La via vectorial és la principal via de transmissió de la infecció. No obstant, també existeixen altres vies de transmissió del paràsit. La transmissió via oral també implica la intervenció del vector i consisteix en la ingesta de menjar o beguda contaminada amb excrements de triatòmics infectats o amb el propi triatomí portador (da Silva Valente *et al.*, 1999). També hi pot haver transmissió de *T. cruzi* sense acció del vector. Es diferencien quatre vies diferents, i per la seva naturalesa poden tenir lloc tant en països endèmics com no endèmics: les transfusions de sang (Angheben *et al.*, 2015), la via congènita o vertical de la mare al fetus (Carlier *et al.*, 2015), el trasplantament d'òrgans (Chin-Hong *et al.*, 2011) i els accidents de laboratori (Herwaldt, 2001).



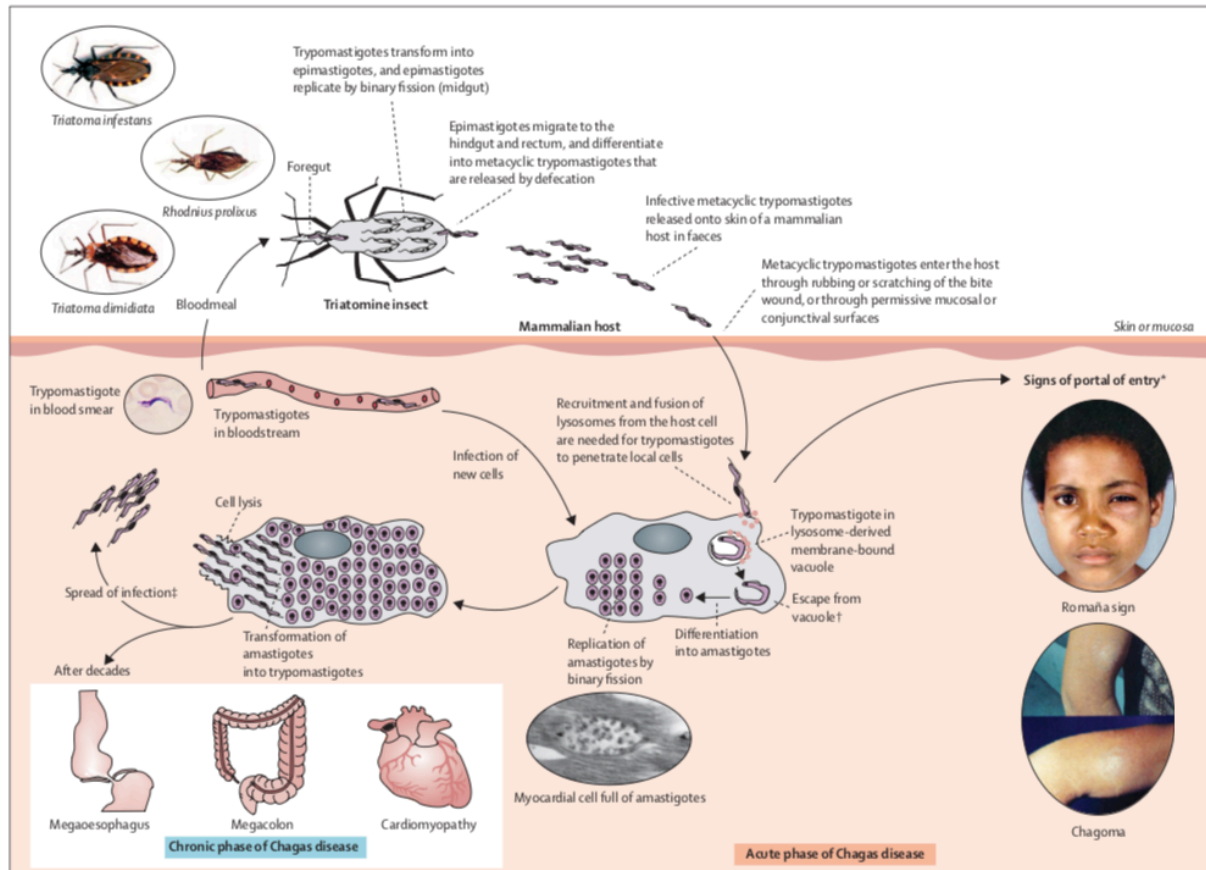
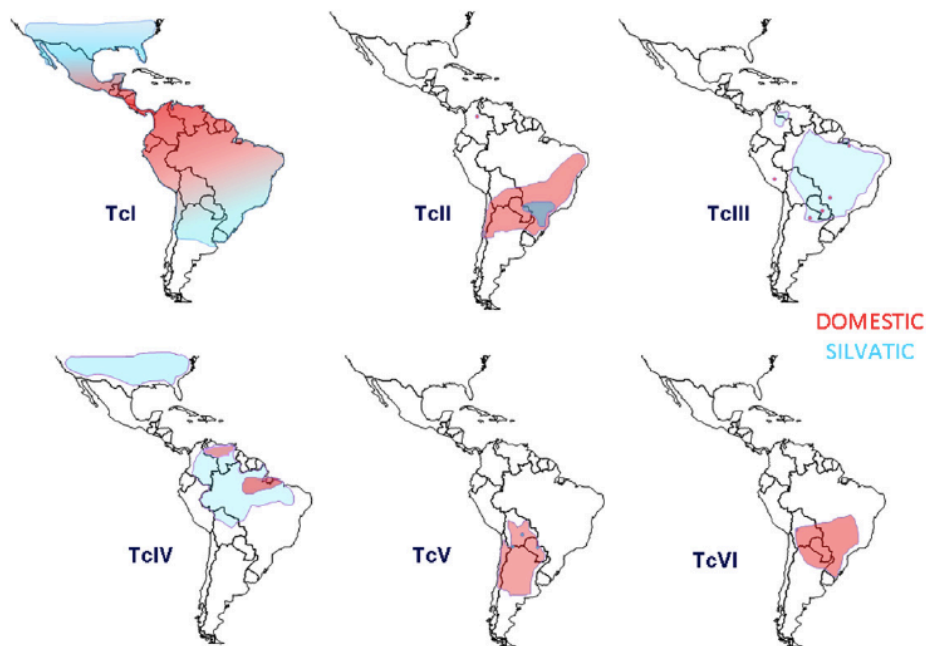


Figura 2. Esquema del cicle biològic de *T. cruzi* amb les seves diferents morfologies (Rasi *et al.*, 2010).

### 1.2.2. Diversitat genètica

*Trypanosoma cruzi* presenta reproducció asexual per divisió binària. La seva diversitat genètica és causada per mutacions discretes i també per processos de recombinació puntuals (Messenger i Miles, 2015). Aquesta diversitat intraespecífica està classificada en les anomenades unitats discretes de tipificació (UDTs), que es defineixen com a col·leccions de soques genèticament similars que comparteixen marcadors moleculars o serològics comuns (Zingales *et al.*, 2012). Hi ha sis UDTs diferents, rebent la nomenclatura de TcI fins a TcVI (Zingales *et al.*, 2009). Més recentment, s'ha postulat una setena UDT, amb el nom provisional de Tcbat, pel fet que s'ha aïllat en rat-penats (Zingales *et al.*, 2012).

Les diverses UDTs tenen diferents distribucions geogràfiques (Figura 3). TcI és la més estesa, arribant a comprendre també el sud dels Estats Units d'Amèrica (EUA); i està associada a ambdós cicles, domèstic i selvàtic. TcII, TcIV i TcVI predominen en els cicles de transmissió domèstics, i es troben ubicades aproximadament al centre d'Amèrica del Sud. Respecte a TcIII, també està distribuïda per la part central d'Amèrica del Sud, però associada al cicle selvàtic i rarament trobada en humans. Per últim, TcIV es troba en ambdós cicles al nord d'Amèrica del Sud, i associada al cicle selvàtic al sud dels EUA (Zingales *et al.*, 2012).



**Figura 3.** Distribució geogràfica de les UDTs de *T. cruzi*. (Zingales *et al.*, 2012).

El fet que el pas a infectar humans sigui relativament recent, fa possible que les diferents UDTs tinguin diferent capacitat d'infectar aquest hoste i amb diferent virulència. Encara que, de moment, la influència de la diversitat genètica en aquest aspecte és desconeguda (Cura i Schijman, 2013).

### 1.3. La malaltia de Chagas

#### 1.3.1. Simptomatologia

Un cop una persona s'infecta amb *T. cruzi*, passa un període d'incubació generalment d'entre una i dues setmanes (Rassi *et al.* 2010). Passat aquest període, comença la fase aguda, que dura de quatre a vuit setmanes. La majoria dels casos són asimptomàtics. D'entre els casos en què en aquesta fase hi ha símptomes, els més comuns són poc específics; com ara febre o malestar. Els casos en què aquesta fase és severa representen menys de l'1% del total. Els símptomes associats són miocarditis, vessament pericàrdic i meningoencefalitis, entre d'altres (Bern *et al.*, 2011b). Aquests casos, tot i ser poc comuns, deriven en una mortalitat dels infectats que sí que presenten símptomes que es calcula entre el 10% i menys del 5% (Rassi *et al.* 2010).

Passat el període de la fase aguda, s'entra a la fase crònica. En aquesta fase, la majoria d'infectats mai desenvolupa símptomes. Però hi ha un cert nombre de casos (aproximadament un terç del total) que, entre 10 i 30 anys després de la infecció, sí que desenvolupen símptomes (Abrás *et al.*, 2022). Es diferencien dos tipus de simptomatologia. Entre un 10 i un 15% desenvolupen disfunció gastrointestinal. No obstant, la problemàtica més severa, i també més freqüent, la pateixen entre un 20 i un 30% dels casos, i consisteix en el desenvolupament de problemes cardíacs com ara cardiomiopatia (Rassi *et al.* 2010).

### 1.3.2. Diagnòstic i tractament

El mètode de diagnòstic de la malaltia de Chagas depèn de la fase, de les anteriorment exposades, en la que es trobi. Durant la fase aguda hi ha un gran nombre de paràsits circulant a la sang, de manera que es poden detectar en una observació al microscopi, ja sigui en fresc o en tinció (Zingales *et al.*, 2018). També es poden fer servir mètodes parasitològics indirectes com el xenodiagnòstic o l'hemocultiu, però requeriran més temps (Hernández *et al.*, 2016). Es pot optar per mètodes moleculars tant en aquesta fase com en la fase crònica, com són la PCR o la PCR a temps real, les que detecten fragments diana del DNA de *T. cruzi* (Alonso-Padilla *et al.*, 2017). En la fase crònica la parasitemia és menor, per aquest motiu són útils tests serològics basats en la detecció d'anticossos IgG anti-*T. cruzi*. Com ara l'assaig d'immunoabsorció lligat a enzim, l'assaig d'hemaglutinació indirecta o la immunofluorescència indirecta; ELISA, IHA i IIF respectivament, pels seus acrònims en anglès (Hernández *et al.*, 2016; Abras *et al.*, 2022).

Pel que fa al tractament de la malaltia, actualment i des de fa aproximadament 50 anys, s'utilitzen dos medicaments, el benznidazol i el nifurtimox. Ambdós requereixen un llarg tractament i sovint presenten efectes secundaris. Tant la tolerància com l'efectivitat es veuen reduïdes a major edat del pacient. Tot i això, el tractament en la fase aguda aconsegueix un 80% de casos curats. Pel que fa a la fase crònica, també s'utilitzen, però hi ha més controvèrsia, i l'ús pot deixar de ser recomanable segons l'estat del pacient (Bemudez *et al.*, 2016; OMS, 2012).

### 1.3.3. Distribució geogràfica

La major part dels infectats per *T. cruzi* es troben als 21 països d'Amèrica Llatina on la malaltia de Chagas és endèmica (WHO, 2023). En aquests països, la malaltia estava inicialment relacionada amb la pobresa a les àrees rurals, però va passar a estendre's també per zones urbanitzades. I, a causa de fluxos migratoris, s'ha estès també a països on el vector no està present (Gascón i Pinazo, 2015).

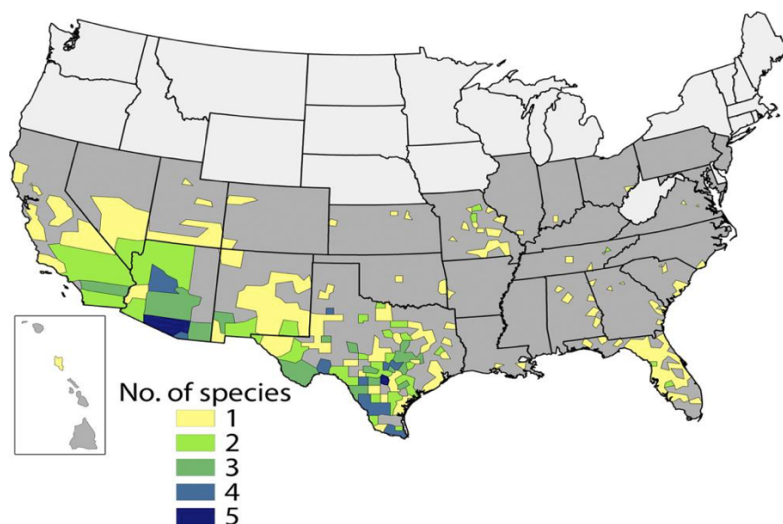
A dades de l'any 2010, destaquen Argentina, Brasil i Mèxic com als països amb major nombre d'infectats. Amb 1.505.235, 1.156.821 i 876.458 casos respectivament. Ara bé, tenint en compte les diferències en el nombre absolut de població dels països anteriorment llistats, si ens fixem en el percentatge d'infectats que s'estima a cada país, llavors destaquen Bolívia, amb un 6,1% de la població total infectada; Argentina, amb un 3,64%; i Paraguai, amb un 2,13% (Abras *et al.*, 2022).

Pel que fa als països no endèmics, la quantitat de casos va lligada al nombre de migrants procedents de les zones endèmiques. Els EUA n'és el principal país receptor, amb aproximadament 20 milions de residents. Això el fa ser també el país amb més casos, amb entre 240.000 i 350.000 d'estimats (Abras *et al.*, 2022). És seguit en nombre de casos pels països europeus d'Espanya i Itàlia, com es pot veure a la Figura 4 (Rassi *et al.*, 2010). Destacant especialment Espanya amb 52.000 casos estimats. Tot i que Itàlia és el tercer país no endèmic en nombre de casos, la xifra d'entre 5.000 i 7.000 casos estimats queda lluny de la dels dos primers (Abras *et al.*, 2022).



**Figura 4.** Nombre estimat d'immigrants amb *T. cruzi* vivint en països no endèmics (Rassi *et al.*, 2010).

Pel que fa als EUA, és un cas especial. La malaltia de Chagas no n'és considerada endèmica, però és un cas diferent de la resta de països no endèmics. Al sud dels EUA sí que hi ha *T. cruzi*, però està establert com a cicle enzoòtic en diverses espècies de mamífers, i històricament no ha passat a establir-se en humans. La distribució d'aquests *T. cruzi* autòctons està lligada a la distribució dels seus vectors. Hi ha presents diverses espècies de triatòmins, principalment a Califòrnia, Nevada, Arizona, Nou Mèxic, Texas i Florida, però també a la resta d'estats de la meitat sud (Figura 5) (Bern *et al.*, 2011a).



**Figura 5.** Distribució de les diverses espècies de triatòmins presents als EUA (Bern *et al.*, 2011a).

## 2. AIM

In this framework, the objective of the present Bachelor's Thesis is to study the genetic diversity of the protozoan *T. cruzi* in the USA to understand the current situation and the evolution of the infection in the area.

### 3. MATERIAL I MÈTODES

La cerca bibliogràfica es va fer el mes de desembre de 2022 per mitjà del portal *Web of Science*, dins del portal de la *Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología* (FECYT). Es van fer un total de sis cerques amb les següents paraules clau: "*Trypanosoma cruzi* AND gen\* diversity AND United States", "*Trypanosoma cruzi* AND gen\* diversity AND USA", "*Trypanosoma cruzi* AND discrete typing unit AND United States", "*Trypanosoma cruzi* AND discrete typing unit AND USA", "*Trypanosoma cruzi* AND DTU AND United States", "*Trypanosoma cruzi* AND DTU AND USA". Es van incloure tots els resultats fins a la data de cerca. D'entre aquests, es van tenir en compte totes les entrades classificades com a articles o articles de revisió dins de la categoria *Document Types*. El mes de febrer de 2023, abans de redactar l'apartat dels resultats de la cerca, es va repetir les cerques per si hi havia noves publicacions i no va ser el cas.

Seguidament, es va procedir a la lectura del títol i el resum dels articles obtinguts i, en cas de dubte, també del seu contingut per tal de seleccionar-los o descartar-los segons fossin o no d'interès pel treball. Els motius d'exclusió d'articles van ser principalment no fer referència a la diversitat genètica de *T. cruzi* sinó dels vectors, tractar altres aspectes de *T. cruzi* diferents a la genètica o no referir-se a dades específiques dels EUA.

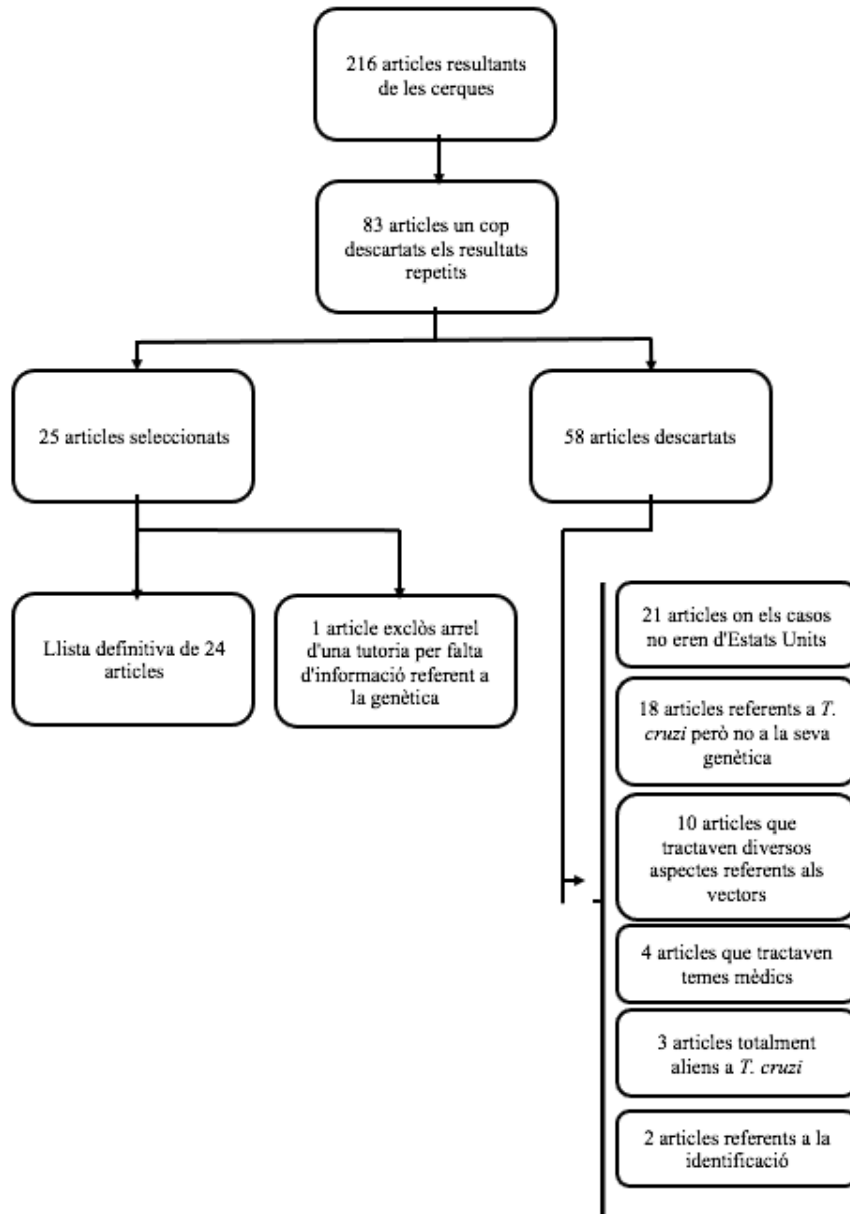
Per últim, es va procedir a la lectura completa dels articles seleccionats per tal d'analitzar-ne el contingut.

### 4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

#### 4.1. Resultats de la cerca

La primera cerca que es va fer va ser "*Trypanosoma cruzi* AND United States" obtenint un total de 40 resultats. D'aquests, segons el criteri exposat anteriorment, se'n van seleccionar 10 i descartar 30. D'aquests 30, 14 eren articles sobre *T. cruzi* però sense fer referència a la seva diversitat genètica. Vuit eren estudis on els casos no eren dels EUA. Set eren articles que tractaven diversos aspectes relacionats amb els vectors. I un era un article totalment aliè a *T. cruzi*. La segona cerca va ser "*Trypanosoma cruzi* AND gen\* diversity AND USA". Mitjançant aquesta combinació de paraules clau, es van obtenir 51 resultats, però 33 eren repetits de la cerca anterior, quedant-ne 18. D'aquests, se'n van seleccionar dos i descartar 16. D'aquests 16, set eren estudis on els casos no eren dels EUA. Tres eren articles que tractaven diversos aspectes referents als vectors. Dos eren articles totalment aliens a *T. cruzi*. Dos tractaven temes mèdics. Un era sobre *T. cruzi* però sense fer referència a la seva diversitat genètica. I un feia referència a la identificació. A través de la cerca amb les paraules clau "*Trypanosoma cruzi* AND discrete typing unit AND United States" es van obtenir 34 resultats dels quals 16 eren repetits de cerques anteriors. Dels 18 restants, se'n va seleccionar 12 i descartar sis. D'aquests sis, dos eren estudis on els casos no eren dels EUA. Dos tractaven temes mèdics. I dos tractaven sobre *T. cruzi* però sense fer referència a la seva diversitat genètica. La següent cerca va ser "*Trypanosoma cruzi* AND discrete typing unit AND USA". En aquest cas, 41 dels 46 resultats van ser repetits de les anteriors cerques i dels 5 restants se'n van descartar quatre i seleccionar un. Dels quatre descartats, dos eren estudis on els casos no eren dels EUA. Un feia referència a la identificació. I un era sobre *T. cruzi* però sense fer referència a la seva diversitat genètica. Amb la cerca "*Trypanosoma cruzi* AND DTU AND United States" es van obtenir 22 resultats dels quals 20 eren repetits i els altres dos van ser descartats, ja que eren estudis on els casos no eren d'Estats Units. L'última cerca va ser "*Trypanosoma cruzi* AND DTU AND USA", en la que els 28 resultats obtinguts ja havien estat prèviament trobats amb les cerques anteriors. Així doncs,

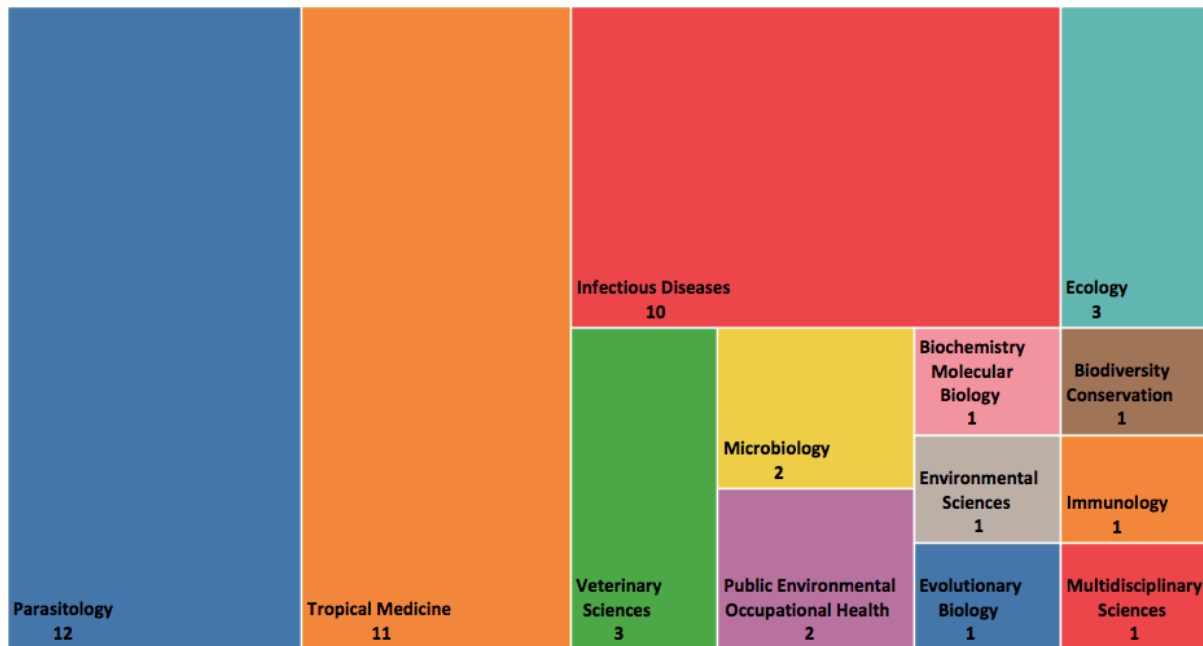
mitjançant les cerques es van seleccionar un total de 25 articles. Finalment, en una tutoria posterior es va acordar amb la tutora excloure un dels dos articles seleccionats en la segona cerca per falta d'informació referent a diversitat genètica de *T. cruzi*. Per tant, la llista final d'articles seleccionats suma un total de 24 treballs (Figura 6).



**Figura 6.** Esquema del procés de selecció dels articles.

## 4.2. Anàlisi dels articles seleccionats

Els 24 articles seleccionats estan classificats en 13 categories diferents segons el cercador de la base de dades *WOS*. La Figura 7 indica la quantitat d'articles que estan classificats en cada una de les categories. Tal com es pot observar, hi ha tres categories predominants: *Parasitology*, *Tropical Medicine* i *Infectious Diseases*, amb 12, 11 i 10 articles, respectivament.



**Figura 7.** Nombre d'articles englobats en cadascuna de les 13 categories en les quals el portal *WOS* classifica els articles seleccionats.





Cal tenir en compte que un mateix article pot estar inclòs en diverses categories. Això queda reflectit a la Taula 1, on es poden veure els 24 articles i les categories dins les quals es troben classificats.

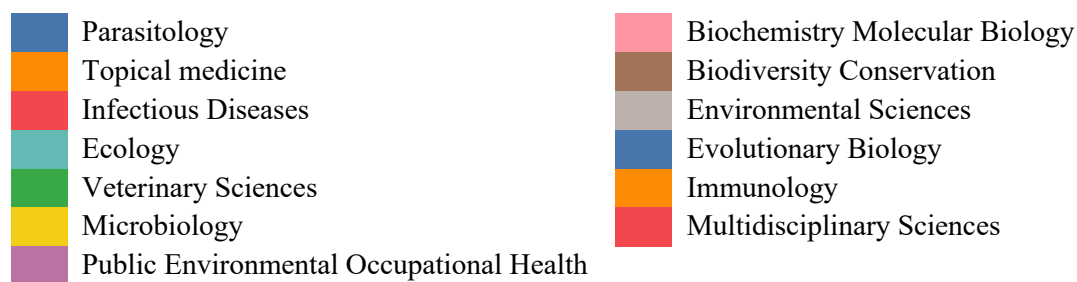
**Taula 1.** Representació dels 24 articles seleccionats classificats en les diverses categories del portal *WOS*. Les categories estan indicades mitjançant el codi de colors establert en la llegenda de la part inferior.

Article	Referència	Categories
<i>Trypanosoma cruzi</i> I genotypes in different geographical regions and transmission cycles based on a microsatellite motif of the intergenic spacer of spliced-leader genes	Cura <i>et al.</i> (2010)	<span style="color: blue;">■</span>
Genetic Variation and Exchange in <i>Trypanosoma cruzi</i> Isolates from the United States	Roellig <i>et al.</i> (2013)	<span style="color: red;">■</span>
Genotype diversity of <i>Trypanosoma cruzi</i> in small rodents and <i>Triatoma sanguisuga</i> from a rural area in New Orleans, Louisiana	Herrera <i>et al.</i> (2015)	<span style="color: blue;">■</span> <span style="color: orange;">■</span>
Molecular Diversity of <i>Trypanosoma cruzi</i> Detected in the Vector <i>Triatoma protracta</i> from California, USA	Shender <i>et al.</i> (2016)	<span style="color: blue;">■</span> <span style="color: orange;">■</span> <span style="color: red;">■</span>
Epidemiology and Molecular Typing of <i>Trypanosoma cruzi</i> in Naturally-Infected Hound Dogs and Associated Triatomine Vectors in Texas, USA	Curtis-Robles <i>et al.</i> (2017)	<span style="color: blue;">■</span> <span style="color: orange;">■</span> <span style="color: red;">■</span>
Molecular identification and genotyping of <i>Trypanosoma cruzi</i> DNA in autochthonous Chagas disease patients from Texas, USA	Garcia <i>et al.</i> (2017)	<span style="color: red;">■</span>

Widespread <i>Trypanosoma cruzi</i> infection in government working dogs along the Texas-Mexico border: Discordant serology, parasite genotyping and associated vectors	Meyers <i>et al.</i> (2017)	
<i>Trypanosoma cruzi</i> strain TcIV infects raccoons from Illinois	Vandermark <i>et al.</i> (2018)	
Analysis of over 1500 triatomine vectors from across the US, predominantly Texas, for <i>Trypanosoma cruzi</i> infection and discrete typing units	Curtis-Robles <i>et al.</i> (2018a)	
Parasitic interactions among <i>Trypanosoma cruzi</i> , triatomine vectors, domestic animals, and wildlife in Big Bend National Park along the Texas-Mexico border	Curtis-Robles <i>et al.</i> (2018b)	
<i>Trypanosoma cruzi</i> Transmission Among Captive Nonhuman Primates, Wildlife, and Vectors	Hodo <i>et al.</i> (2018)	
<i>Trypanosoma cruzi</i> diversity in naturally infected nonhuman primates in Louisiana assessed by deep sequencing of the mini-exon gene	Herrera <i>et al.</i> (2019)	
Chagas Disease in the United States: a Public Health Approach	Bern <i>et al.</i> (2019)	
Pathology and discrete typing unit associations of <i>Trypanosoma cruzi</i> infection in coyotes ( <i>Canis latrans</i> ) and raccoons ( <i>Procyon lotor</i> ) of Texas, USA	Hodo <i>et al.</i> (2020)	
Prevalence of <i>Trypanosoma cruzi</i> infection and associated histologic findings in domestic cats ( <i>Felis catus</i> )	Zecca <i>et al.</i> (2020a)	
<i>Trypanosoma cruzi</i> infections and associated pathology in urban-dwelling Virginia opossums ( <i>Didelphis virginiana</i> )	Zecca <i>et al.</i> (2020b)	
Nationwide Exposure of US Working Dogs to the Chagas Disease Parasite, <i>Trypanosoma cruzi</i>	Meyers <i>et al.</i> (2020)	
Deep sequencing reveals multiclonality and new discrete typing units of <i>Trypanosoma cruzi</i> in rodents from the southern United States	Pronovost <i>et al.</i> (2020)	
Interactions among <i>Triatoma sanguisuga</i> blood feeding sources, gut microbiota and <i>Trypanosoma cruzi</i> diversity in southern Louisiana	Dumonteil <i>et al.</i> (2020a)	
Genetic diversity of <i>Trypanosoma cruzi</i> parasites infecting dogs in southern Louisiana sheds light on parasite transmission cycles and serological diagnostic performance	Dumonteil <i>et al.</i> (2020b)	

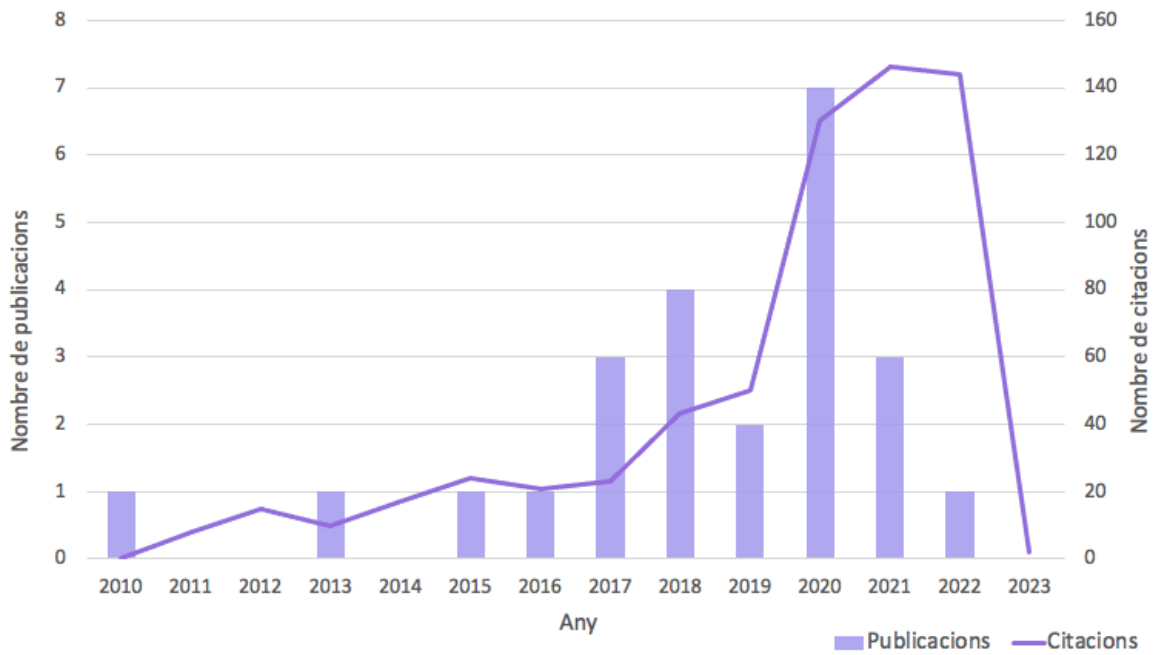


Surveillance of <i>Trypanosoma cruzi</i> infection in Triatomine vectors, feral dogs and cats, and wild animals in and around El Paso County, Texas, and New Mexico	Rodriguez <i>et al.</i> (2021)	
Shelter cats host infections with multiple <i>Trypanosoma cruzi</i> discrete typing units in southern Louisiana	Dumonteil <i>et al.</i> (2021)	
Insights from a comprehensive study of <i>Trypanosoma cruzi</i> : A new mitochondrial clade restricted to North and Central America and genetic structure of TcI in the region	Lima-Cordon <i>et al.</i> (2021)	
Phylogenetic diversity of two common <i>Trypanosoma cruzi</i> lineages in the Southwestern United States	Flores-Lopez <i>et al.</i> (2022)	

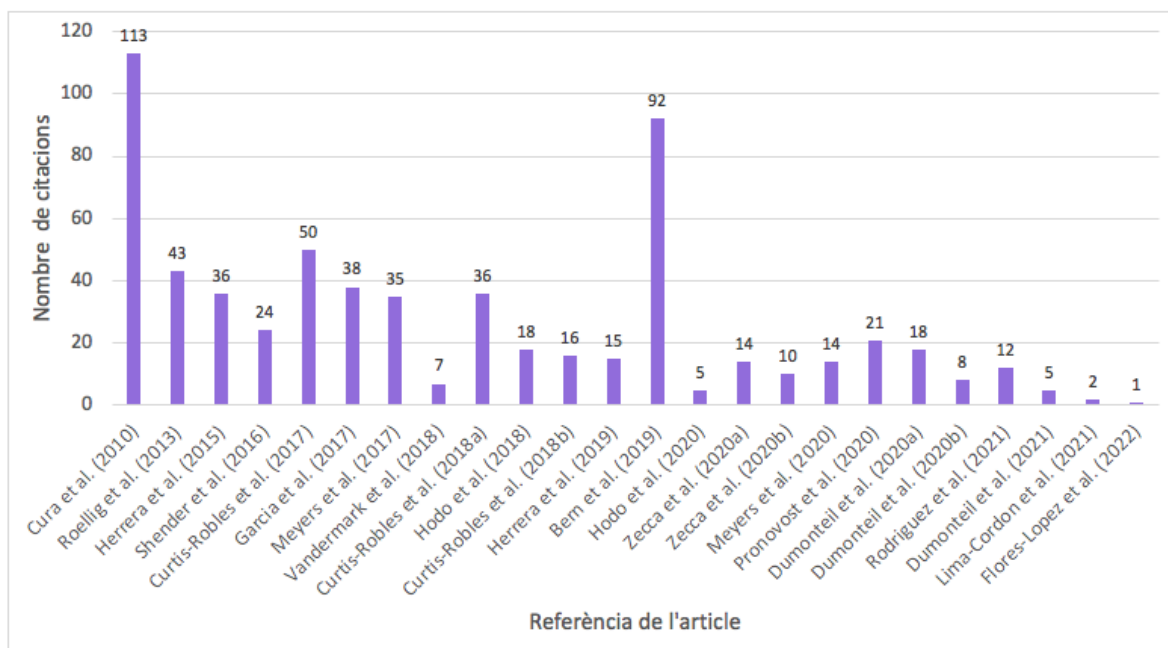


Pel que fa a l'any de publicació dels articles, com es pot veure a la Figura 8, es tracta de publicacions relativament recents. La més antiga data del 2010 i la més nova és del 2022. S'observa un augment de publicacions l'any 2017 que desemboca en un pic l'any 2020, on s'arriba a les vuit publicacions referents al tema d'estudi. També es pot observar en aquest mateix gràfic que les citacions anuals del conjunt d'articles segueixen una progressió semblant a la del nombre de publicacions. Es pot apreciar un fort augment de cites l'any 2020 arribant a les 130. Passat aquest augment, els valors es mantenen estables fins al 2022. L'any 2023 només apareixen dues citacions, ja que es tracta de dades fins al gener d'aquest any.

En referència al nombre de citacions de cada article per separat, a la Figura 9 s'observa com hi ha dues publicacions que destaquen per sobre de la resta: Cura *et al.* (2010) i Bern *et al.* (2019) amb 113 i 92 citacions, respectivament. Cura *et al.* (2010) és un article de recerca que tracta sobre els genotips de TcI segons la distribució geogràfica. En canvi, Bern *et al.* (2019) és una revisió bibliogràfica que fa una descripció detallada de tots els aspectes relacionats amb la malaltia de Chagas als EUA. També s'hi aprecia una tendència a major nombre de citacions en els articles que porten més anys publicats, tot i que hi ha excepcions. Cosa esperable, ja que, portant més temps publicats, s'hauran publicat més articles després seu, per tant, hauran tingut més oportunitats de ser citats que un article més recent.



**Figura 8.** Nombre d'articles publicats (barres) i el nombre de cites anuals (línia) del conjunt d'articles. Dades fins a gener de 2023.



**Figura 9.** Nombre de citacions de cada article seleccionat. Dades de citacions acumulades des de la data de publicació fins a gener de 2023.

El contingut dels 24 articles seleccionats s'ha dividit en diferents seccions que es presenten a continuació.

### 4.3. Diversitat dins de TcI

D'entre les UDTs de *T. cruzi*, TcI no només és la més estesa sinó que també és la que presenta major diversitat intra-UDT (Zingales *et al.*, 2018). Degut a aquesta alta diversitat, Cura *et al.* (2010) va proposar els subgrups TcIa, TcIb, TcIc, TcId i TcIe després d'haver analitzat 105 mostres de *T. cruzi* TcI d'onze països endèmics, entre els quals es va incloure els EUA. Aquesta nomenclatura donava continuïtat i ampliava la que s'havia descrit per part d'Herrera *et al.* (2007) en mostres procedents de Colòmbia. Pel que fa a les dades presentades per Cura *et al.* (2010), als EUA només s'hi troba presència de TcIa. L'estudi comprèn exemplars d'una gran quantitat de zones endèmiques (Figura 10), però cal tenir present que de les 105 mostres utilitzades, només dues són dels EUA. Concretament, procedeixen d'un triatomí (*Triatoma gerstaeckeri*) trobat a l'estat de Texas i un opòssum (*Didelphis virginiana*) trobat a l'estat de Florida.

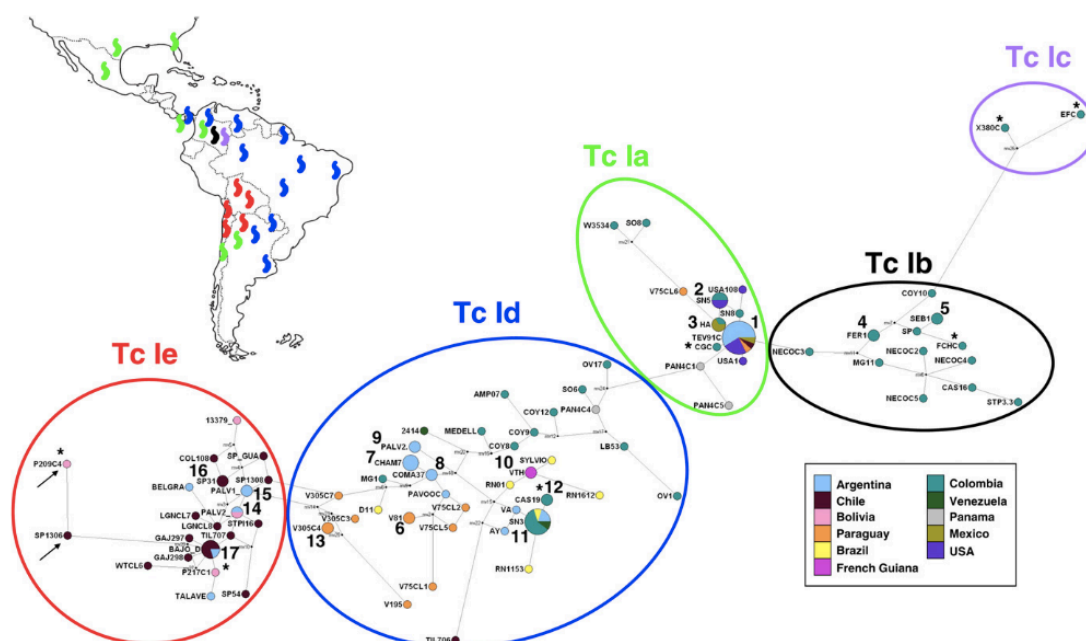


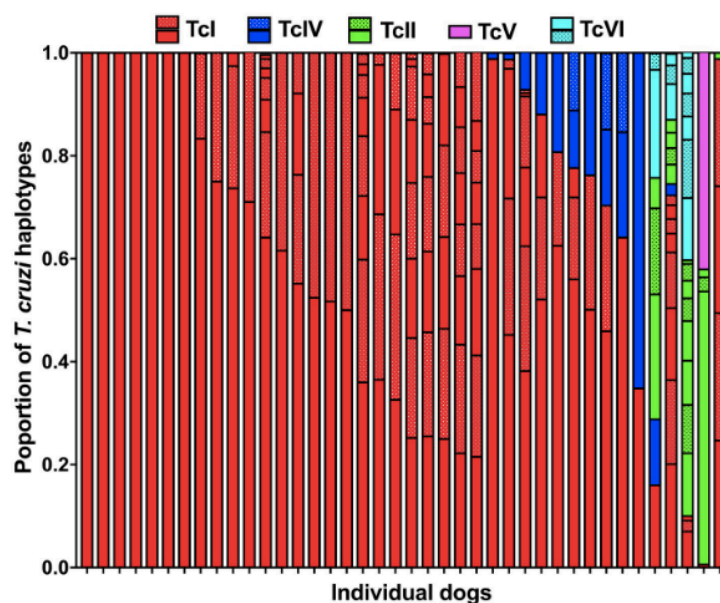
Figura 10. Mapa de la distribució geogràfica dels subgrups dins de TcI (Cura *et al.* 2010).

### 4.4. El cas de TcIV-EUA

Els paràsits *T. cruzi* TcIV que presents als EUA no es poden considerar un grup genèticament homogeni amb els TcIV d'Amèrica del Sud. Val a dir que les seqüències més semblants a les dels TcIV dels EUA són les dels TcIV d'Amèrica del Sud, i és per això que la majoria d'autors parlen de TcIV en tots els casos. Tot i que no hi hagi diferències suficients perquè constitueixin una UDT a part, hi ha autors que consideren que seria pertinent fer una subdivisió, sent un cas semblant al que s'exposava en el punt 4.3 pel que fa a TcI. Aquesta postura és l'exposada per part de Flores-Lopez *et al.* (2022), article en el qual es fa referència a aquest grup com a TcIV-USA. La nomenclatura ja havia estat usada a l'article Shender *et al.* (2016), encara que també existia com a TcIV-US (Lewis *et al.*, 2011). Tot i això, no és una nomenclatura que estigui estesa i la resta d'articles consultats segueixen utilitzant TcIV, per tant, en la resta del treball serà TcIV la utilitzada.

#### 4.5. Múltiples haplotips

Com es veurà en dades de posteriors punts d'aquest treball, és possible que un hoste o un vector estigui infectat amb més d'una UDT. Tot i ser comú que una sola línia del paràsit hagi infectat un hoste, moltes vegades es troba més d'un haplotip de *T. cruzi* en una mostra, com és el cas de Pronovost *et al.* (2020), en què arriben a trobar entre 6 i 32 haplotips per individu en rosegadors. A l'article Dumonteil *et al.* (2020b) arriben a trobar gossos infectats amb fins a cinc UDTs diferents, també altres gossos amb una sola UDT, però amb fins a 8 haplotips diferents dins de la mateixa (Figura 11). Aquesta multiclonalitat podria tenir implicacions patològiques, ja que Pronovost *et al.* (2020) recalca que, en els casos amb infeccions mixtes, es troben UDTs diferents infectant diferents òrgans d'un mateix hoste. Aquest fet també implica la possibilitat que en estudis menys exhaustius en la identificació de UDTs s'hagin pogut passar per alt infeccions mixtes.



**Figura 11.** Proporció i diversitat de les seqüències de *T. cruzi* trobades en gossos essent cada barra els resultats d'un gos (Dumonteil *et al.*, 2020b).

#### 4.6. *Trypanosoma cruzi* en hostes humans als EUA

Com s'ha exposat en el punt 1.3.3, la immensa majoria dels casos de malaltia de Chagas en humans als EUA no són autòctons sinó que s'han detectat en migrants prèviament infectats en països endèmics. Pel que fa a la diversitat genètica de *T. cruzi* en aquestes persones, no se n'ha fet estudis i, per tant, no hi ha dades publicades al respecte (Bern *et al.*, 2019).

Per altra banda, tot i ser molt minoritaris, els casos de transmissió autòctona als EUA sí que existeixen. Segons les dades que recull Bern *et al.* (2019), pel que fa a transmissió local per vies no vectorials, per transfusió de sang s'ha reportat set casos des de 1988; i via trasplantament d'òrgans, nou des de 2001 fins a la data de publicació. Pel que fa a la via vectorial, hi ha reportats 28 casos des de 1955 dels quals se'n tingui evidència que hagi fet concloure que la infecció ha estat per part d'un vector local dels quals no se n'ha analitzat la genètica de *T. cruzi*.

Per altra banda, hi ha nou casos de transmissió autòctona per via vectorial que sí que s'han analitzat genèticament. Tres casos van resultar ser TcI (Roelling *et al.*, 2013). En quatre casos només es va poder

determinar que es tractava de TcII/TcV/TcVI, sense concretar la UDT específica. Els altres dos casos van tractar-se d'una infecció mixta entre TcI i una altra UDT que també va constar com a TcII/TcV/TcVI (Garcia *et al.*, 2017).

## 4.7. UDTs trobades als EUA

### 4.7.1. UDTs trobades en vectors als EUA

Com s'ha explicat al punt 1.2.2., les diferents UDTs no tenen igual distribució geogràfica, pel que fa als EUA esperàriem trobar només TcI i TcIV (veure Figura 3 a la Introducció).

Entre tots els articles seleccionats que s'han exposat als punts 4.1 i 4.2, s'ha identificat la UDT de *T. cruzi* que infectava 1160 triatòmins d'almenys sis espècies diferents, ja que d'alguns exemplars no se n'especifica l'espècie (Taula 2). Del total de triatòmins, un 66,72% estaven infectats amb TcI, i un 42,33% amb TcIV. Aquests resultats indiquen que la UDT que predomina en vectors d'aquest país és TcI, però TcIV també hi és present en bona part. Com també es pot veure a la taula, hi ha tres *Triatoma spp.* que a l'article Dumonteil *et al.* (2020a) no arriben a poder diferenciar entre TcII i TcV. No obstant, són la prova del fet que almenys una d'aquestes dues UDTs està present a EUA, tot i que cal dir que la proporció és molt baixa, com es pot veure en els percentatges totals.

També cal mencionar que es pot observar com hi ha espècies de triatòmins que tenen major percentatge de TcIV que no de TcI, seguint una proporció oposada. Com és el cas de *T. sanguisuga*, que té un percentatge del 78% de TcIV, i tractant-se de dades de 160 individus, és d'esperar que aquest percentatge sigui representatiu dels percentatges absoluts reals. Sabent que diferents UDTs estan associades a diferents cicles de transmissió, com s'explica al punt 1.2.2., és normal que les diferents UDTs tinguin presència desigual en diferents espècies de triatòmins.

**Taula 2.** UDTs de *T. cruzi* trobades en vectors als EUA. Dades només d'aquells casos que se n'ha analitzat la genètica.

	TcI		TcIV		TcII/TcV		TcII/TcIII/TcIV/TcV/TcVI		Nº total
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
<i>T. gerstaeckeri</i>	385	66,49%	263	45,42%	0	0,00%	0	0,00%	579
<i>T. indictiva</i>	11	39,29%	19	67,86%	0	0,00%	0	0,00%	28
<i>T. lecticula</i>	17	40,48%	33	78,57%	0	0,00%	0	0,00%	42
<i>T. protracta</i>	27	93,10%	2	6,90%	0	0,00%	0	0,00%	29
<i>T. rubida</i>	218	98,64%	10	4,52%	0	0,00%	0	0,00%	221
<i>T. sanguisuga</i>	38	23,75%	125	78,13%	0	0,00%	6	3,75%	160
<i>Triatoma spp.</i>	78	77,23%	39	38,61%	3	2,97%	0	0,00%	101
<b>Total</b>	<b>774</b>	<b>66,72%</b>	<b>491</b>	<b>42,33%</b>	<b>3</b>	<b>0,26%</b>	<b>6</b>	<b>0,52%</b>	<b>1160</b>

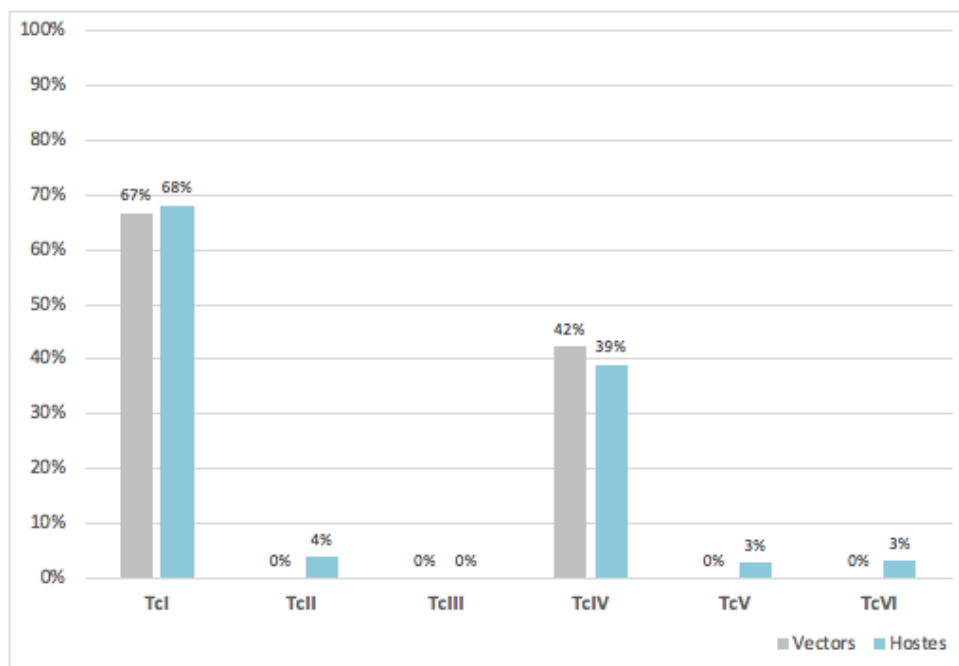
Degut a la possibilitat de trobar múltiples UDTs en un sol individu, la suma dels valors de nombre d'individus amb cada UDTs pot ser major que el nombre total d'individus. Cada percentatge representa el nombre d'individus amb aquella UDT, de manera que la suma dels percentatges pot excedir el 100%. Aquells casos en què no s'ha pogut arribar a trobar la UDT, però sí que se'n descarta alguna, estan representats amb el nom de les UDTs possibles, separats per una barra diagonal. Dades per crear la taula extretes dels resultats de Curtis-Robles *et al.* (2018a), Curtis-Robles *et al.* (2018b), Roellig *et al.* (2013), Lima-Cordon *et al.* (2021), Dumonteil *et al.* (2020a), Shender *et al.* (2016), Flores-Lopez *et al.* (2022), Curtis-Robles *et al.* (2017), Rodriguez *et al.* (2021), Cura *et al.* (2010), Hodo *et al.* (2018), Zecca *et al.* (2020b) i Meyers *et al.* (2017).

#### 4.7.2. UDTs trobades en hostes i comparativa amb vectors

Entre tots els articles seleccionats que s'ha exposat als punts 4.1 i 4.2, s'ha identificat la UDT de *T. cruzi* que infectava 289 hostes de 17 espècies diferents, a més d'armadillos, mofetes, ratolins i rosegadors en general dels que no se n'especifica l'espècie. Com es pot veure a la Figura 12, els percentatges de TcI i TcIV són molt semblants als trobats en vectors. Per altra banda, com es pot observar a la mateixa figura i també a la Taula 3, en el cas de *T. cruzi* trobat en hostes, apareixen les UDTs TcII, TcV i TcVI. Acaben tenint uns percentatges del 3,81, 2,77 i 3,11% respectivament, a més del 2,08% de les mostres classificades com a TcII/TcV/TcVI. Malgrat ser percentatges reduïts, impliquen l'existència d'una petita part de *T. cruzi* a EUA que no és TcI ni TcIV, cosa que no es contemplava segons la distribució geogràfica plasmada a la Figura 3.

Un cop més, es pot veure que hi ha espècies que presenten diferències notables respecte a la distribució mitjana de percentatges d'UDTs. És el cas dels ossos rentadors (*Procyon lotor*) que de 45 individus, 44 (97,78%) presenten TcIV. Es tracta d'un fet esperable pels motius anteriorment exposats pel mateix cas en triatomins.

Cal mencionar també les dades dels resultats de Dumonteil *et al.* (2021), que tot i tractar-se de *T. cruzi* trobat en gats, no s'ha pogut afegir a la Taula 3 degut al format de les dades, ja que no s'especifica quants individus tenen cada UDT. Només s'especifica que de 19 gats, 16 tenen més d'una UDT. Les dades es donen en forma de percentatge d'haplotips trobats en total, essent un 57,1% TcI, un 31,8% TcVI, un 8,3% TcIV i un 2,9% TcV. Ressaltant principalment l'alt percentatge de TcVI.



**Figura 12.** Comparativa entre vectors i hostes de les dades de percentatge de cada UDT trobada en casos dels EUA. Gràfica feta a partir de les dades exposades a les taules 2 i 3, només utilitzant les dades d'aquelles UDT que s'arriba a identificar completament.

**Taula 3.** UDTs de *T. cruzi* trobades infectant hostes als EUA. Dades només d'aquells casos que se n'ha analitzat la genètica.

Nom comú	Nom científic	TcI		TcII		TcIV		TcV		TcVI		TcII/TcV/TcVI		Nº total
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
Humà	<i>Homo sapiens</i>	5	55,56%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	6	66,67%	9
Gos	<i>Canis lupus familiaris</i>	85	80,95%	5	4,76%	40	38,10%	4	3,81%	4	3,81%	0	0,00%	105
Opòssum	<i>Didelphis virginiana</i>	28	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	28
Os rentador	<i>Procyon lotor</i>	2	4,44%	0	0,00%	44	97,78%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	45
Lèmur	<i>Lemur catta</i>	0	0,00%	0	0,00%	3	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	3
Macaco	<i>Macaca mulatta</i>	9	100,00%	0	0,00%	1	11,11%	0	0,00%	1	11,11%	0	0,00%	9
	<i>Macaca nemestrina</i>	1	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	1
	<i>Rhesus macaques</i>	20	60,61%	0	0,00%	15	45,45%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	33
Armadillo	no especificat	2	66,67%	0	0,00%	1	33,33%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	3
Mofeta	no especificat	0	0,00%	0	0,00%	1	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	1
	<i>Mephitis mephitis</i>	1	50,00%	0	0,00%	1	50,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	2
Gat	<i>Felis catus</i>	5	83,33%	0	0,00%	1	16,67%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	6
Ratolí	no especificat	17	85,00%	4	20,00%	1	5,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	20
	<i>Peromyscus eremicus</i>	1	100,00%	0	0,00%	1	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	1
	<i>Reithrodontomys megalotis</i>	1	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	1
Rata	<i>Neotoma floridana</i>	2	66,67%	1	33,33%	1	33,33%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	3
Rosegador	No especificat	3	75,00%	1	25,00%	2	50,00%	4	100,00%	4	100,00%	0	0,00%	4
Babuí	<i>Papio spp.</i>	2	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	2
Coiot	<i>Canis latrans</i>	11	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	11
Esquirol	<i>Xerospermophilus spilosoma</i>	1	100,00%	0	0,00%	1	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	1
Guineu	<i>Urocyon cinereoargenteus</i>	1	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	1
Total		197	68,17%	11	3,81%	113	39,10%	8	2,77%	9	3,11%	6	2,08%	289

Degut a la possibilitat de trobar múltiples UDTs en un sol individu, la suma dels valors de nombre d'individus amb cada UDTs pot ser major que el nombre total d'individus. Cada percentatge representa el nombre d'individus amb aquella UDT, de manera que la suma dels percentatges pot excedir el 100%. Aquells casos en què no s'ha pogut arribar a trobar la UDT, però sí que se'n descarta alguna, estan representats amb el nom de les UDTs possibles, separats per una barra diagonal. Dades per crear la taula extretes dels resultats de Roellig *et al.* (2013), Herrera *et al.* (2015), Herrera *et al.* (2019) Dumonteil *et al.* (2020b), Pronovost *et al.* (2020), Garcia *et al.* (2017), Curtis-Robles *et al.* (2017), Meyers *et al.* (2017) Meyers *et al.* (2020), Hodo *et al.* (2020), Hodo *et al.* (2018), Zecca *et al.* (2020a), Zecca *et al.* (2020b), Rodriguez *et al.* (2021), Vandermark *et al.* (2018) i Cura *et al.* (2010).

Analitzant les dades completes (Taula 4), tenint en compte vectors i hostes, es pot observar que l'única UDT que no està present als EUA és TcIII. TcII, TcV i TcVI tenen una presència testimonial al país, amb 0,76, 0,55 i 0,62%, respectivament. TcI i TcIV tenen una presència estesa, amb molta diferència de les anteriors, però TcI és de manera clara la que més prevalença té.

Cal mencionar que, paradoxalment, d'UDTs que no fossin TcI i TcIV, se n'ha trobat més casos en hostes (34) que no en vectors (3) tot i haver analitzat 1160 vectors i tan sols 289 hostes.

**Taula 4.** Nombre i percentatge total de cada UDT. Sumatori de les dades de les Taules 2 i 3. Les dades d'UDTs incertes han estat excloses.

TcI		TcII		TcIV		TcV		TcVI		Nº total
Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
971	67,01%	11	0,76%	604	41,68%	8	0,55%	9	0,62%	1449

#### 4.8. Distribució geogràfica de la diversitat genètica de *T. cruzi* dins els EUA

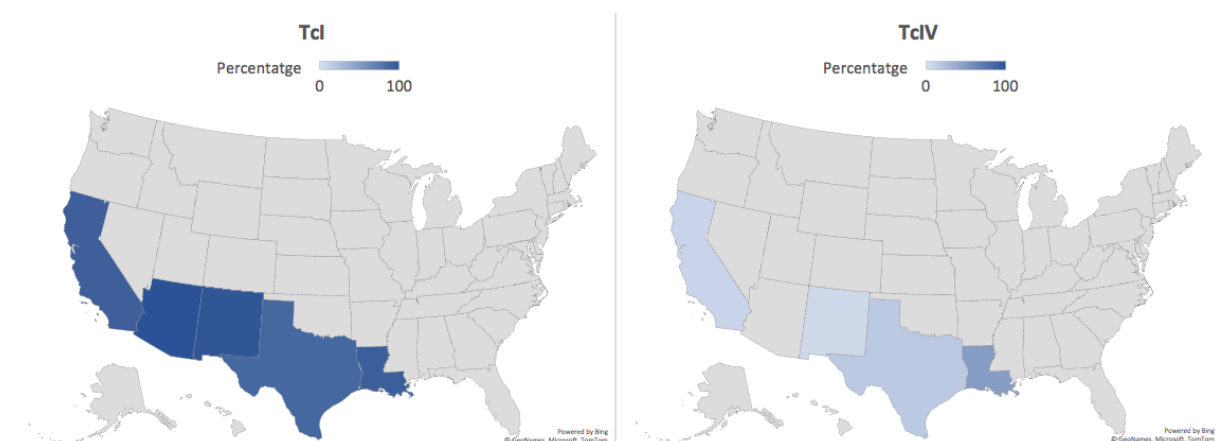
Els EUA és un país molt extens, per una correcta anàlisi de la diversitat genètica del paràsit al país és necessari un context geogràfic d'aquesta diversitat. No s'especifica la procedència geogràfica concreta de les dades a tots els articles consultats, per tant, les taules i gràfics que es mostren a continuació no s'han pogut fer amb totes les dades anteriorment exposades.

Les dades referents *T. cruzi* trobat en vectors que s'han pogut classificar segons l'estat de procedència són les que es mostren a la Taula 5. Cal tenir en compte que el gràfic en forma de mapa que es mostra a la Figura 14 no és una representació del nombre de paràsits de cada UDT sinó un percentatge. El nombre absolut de casos trobats en un estat depèn en gran part de la quantitat d'estudis que s'hi fan. Així, si bé a la Taula 5 es veuen reflectits més casos a Califòrnia que a Arizona, no és prova de què hi hagi més *T. cruzi* en aquest estat. De manera que als estats sense dades no són sinònim d'absència, encara que evidentment hi ha una certa relació entre estats amb més *T. cruzi* i estats on es fa més estudis al respecte. Els gràfics en forma de mapa de la Figura 13 no volen representar incidència sinó proporció de cada UDT trobada.

**Taula 5.** Nombre de *T. cruzi* de cada UDT trobats en triatòmins classificats segons l'estat d'origen.

	Tcl	TcIV
Arizona	1	0
Califòrnia	20	2
Louisiana	37	19
Nou Mèxic	116	8
Texas	168	34

Només tingudes en compte aquelles dades de les quals se n'especifica l'estat de procedència. Dades extretes dels resultats de Lima-Cordon *et al.* (2021), Dumonteil *et al.* (2020a), Shender *et al.* (2016), Flores-Lopez *et al.* (2022), Curtis-Robles *et al.* (2017), Curtis-Robles *et al.* (2018b), Rodriguez *et al.* (2021), Cura *et al.* (2010), Hodo *et al.* (2018), Zecca *et al.* (2020b) i Meyers *et al.* (2017).



**Figura 13.** Percentatge de *T. cruzi* que pertany a cada UDT trobat en cada estat en vectors.

Pel que fa a les dades referents *T. cruzi* trobat en hostes que s'han pogut classificar segons l'estat de procedència són les que es mostren a la Taula 6. Els gràfics de la Figura 14 funcionen d'igual forma que els de la figura 13, representant percentatges de cada UDT segons l'Estat.



A la Figura 14, destaquen la varietat i equitat d'UDTs trobades a Califòrnia i Louisiana enfront de l'exclusivitat de TcI i TcIV a Texas. Les dades de Florida, Illinois i Virgínia, a causa del baix nombre total, són merament testimonials, encara que cal dir que les dels dos darrers són sorprenents per la latitud tant al nord en què s'arriba a trobar el paràsit.

**Taula 6.** Nombre de *T. cruzi* de cada UDT trobats en hostes classificats segons l'estat d'origen.

	TcI	TcII	TcIV	TcV	TcVI
California	14	1	5	4	4
Florida	1	0	0	0	0
Illinois	0	0	7	0	0
Louisiana	59	10	14	4	4
Texas	106	0	56	0	0
Virginia	0	0	1	0	0

Només tingudes en compte aquelles dades de les quals se n'especifica l'estat de procedència. Dades extretes dels resultats d'Herrera et al. (2015), Herrera et al. (2019), Dumonteil et al. (2020b), Pronovost et al. (2020), Garcia et al. (2017), Curtis-Robles et al. (2017), Meyers et al. (2017), Meyers et al. (2020), Hodo et al. (2018), Hodo et al. (2020), Zecca et al. (2020a), Zecca et al. (2020b), Rodriguez et al. (2021), Vandermark et al. (2018), Cura et al. (2010).



**Figura 14.** Percentatge de *T. cruzi* que pertany a cada UDT trobat en cada estat en hostes.

Tot i que les Figures 13 i 14 s'han pogut realitzar amb èxit, el fet que hi hagi molts articles que no especifiquen l'origen de les mostres fa que les seves dades siguin inutilitzables per a aquesta finalitat. Cal animar els autors a especificar l'origen concret més enllà de dir-ne només el país. En el futur podria ser necessari consultar dades d'un estat en concret. La recopilació de dades d'aquest treball ho fa més accessible, però s'ha perdut una bona quantitat d'informació valuosa de moltes mostres només a causa de la manca d'informació sobre l'origen, la qual cosa és una llàstima.

#### 4.9. Consideracions finals

És necessari estudiar les diferències patològiques i epidemiològiques entre les diferents UDTs. En el moment que es tingui aquesta informació, si resulta que les UDTs tenen diferents implicacions clíniques en humans, serà de gran interès saber quines UDTs es troben circulant a cada zona dels EUA.

El fet que la malaltia de Chagas no hagi passat a humans als EUA més enllà de casos puntuals és el que fa que *T. cruzi* sigui menys estudiat en aquest país. No obstant, que la malaltia s'hagi mantingut com a enzoòtica fins avui en dia no és cap garantia de que segueixi així en el futur. Per altra banda, podria ser que el canvi climàtic modifiqui la distribució geogràfica dels triatòmins i, per extensió, de *T. cruzi* i la facilitat amb què es transmet als humans. Per tant, cal destinar més investigació a aquest paràsit com l'amenaça potencial que és.

### 5. CONCLUSIONS

The conclusions of this Bachelor's Thesis are:

- Data from 1160 individual DTUs found in triatomines and 289 found in hosts were compiled.
- There is a natural population of *T. cruzi* in the USA with a clear genetic distribution.
- TcI and TcIV are the main DTUs in this country, with TcI being the largest in number.
- Contrary to what might be expected, TcI and TcIV are not the only DTUs that can be found in the USA, as TcII, TcV and TcVI are also present in small percentages.
- The only DTU still not detected in the country is TcIII.

### 6. AGRAÏMENTS

En primer lloc, donar-li les gràcies a qui ha estat la meva tutora en aquest treball de fi de grau, la Dra. Alba Abras, que ha estat pendent d'ajudar-me en tot moment per tal que en resultés un bon treball i també d'aclarir-me els dubtes que m'han anat sorgint. Gràcies per la paciència al llarg d'aquests mesos i per donar-me l'oportunitat de conèixer la malaltia de Chagas, el seu agent causal, la diversitat genètica que presenta i el cas concret de la que presenta als EUA.

Vull agrair també a la meva família, als meus amics i a la meva parella pel seu suport al llarg de tot el procés i per haver mostrat sempre el seu recolzament.

## 7. BIBLIOGRAFIA

- Abras, A., Ballart, C., Fernández-Arévalo, A., Pinazo, M. J., Gascón, J., Muñoz, C., & Gállego, M. (2022). Worldwide Control and Management of Chagas Disease in a New Era of Globalization: a Close Look at Congenital *Trypanosoma cruzi* Infection. *Clinical microbiology reviews*, *35*(2), e0015221. <https://doi.org/10.1128/cmr.00152-21>
- Alonso-Padilla, J., Gallego, M., Schijman, A. G., & Gascon, J. (2017). Molecular diagnostics for Chagas disease: up to date and novel methodologies. *Expert review of molecular diagnostics*, *17*(7), 699–710. <https://doi.org/10.1080/14737159.2017.1338566>
- Angheben, A., Boix, L., Buonfrate, D., Gobbi, F., Bisoffi, Z., Pupella, S., Gandini, G., & Aprili, G. (2015). Chagas disease and transfusion medicine: a perspective from non-endemic countries. *Blood transfusion = Trasfusione del sangue*, *13*(4), 540–550. <https://doi.org/10.2450/2015.0040-15>
- Araújo, A., Jansen, A. M., Reinhard, K., & Ferreira, L. F. (2009). Paleoparasitology of Chagas disease—a review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, *104* Suppl 1, 9–16. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762009000900004>
- Aufderheide, A. C., Salo, W., Madden, M., Streitz, J., Buikstra, J., Guhl, F., Arriaza, B., Renier, C., Wittmers, L. E., Jr, Fornaciari, G., & Allison, M. (2004). A 9,000-year record of Chagas' disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(7), 2034–2039. <https://doi.org/10.1073/pnas.0307312101>
- Bermudez, J., Davies, C., Simonazzi, A., Pablo Real, J., & Palma, S. (2016). Current drug therapy and pharmaceutical challenges for Chagas Disease. *Acta Tropica*, *156*, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.12.017>
- Bern, C., Kjos, S., Yabsley, M. J., & Montgomery, S. P. (2011a). *Trypanosoma cruzi* and Chagas' Disease in the United States. *Clinical microbiology reviews*, *24*(4), 655–681. <https://doi.org/10.1128/CMR.00005-11>
- Bern, C., Martin, D. L., & Gilman, R. H. (2011b). Acute and congenital Chagas disease. *Advances in parasitology*, *75*, 19–47. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385863-4.00002-2>
- Bern, C., Messenger, L. A., Whitman, J. D., & Maguire, J. H. (2019). Chagas Disease in the United States: A Public Health Approach. *Clinical Microbiology Reviews*, *33*(1), e00023-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00023-19>
- Carlier, Y., Sosa-Estani, S., Luquetti, A. O., & Buekens, P. (2015). Congenital Chagas disease: an update. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, *110*(3), 363–368. <https://doi.org/10.1590/0074-02760140405>
- Chin-Hong, P. V., Schwartz, B. S., Bern, C., Montgomery, S. P., Kontak, S., Kubak, B., Morris, M. I., Nowicki, M., Wright, C., & Ison, M. G. (2011). Screening and treatment of chagas disease in organ transplant recipients in the United States: recommendations from the chagas in transplant working group. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*, *11*(4), 672–680. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2011.03444.x>

- Cura C. I. i Schijman A. G. (2013). Relación entre los genotipados de *T. cruzi* y la presentación clínica de la enfermedad de Chagas. *Revista Española de la Salud Pública*, 86, 9-16.
- Cura, C. I., Mejía-Jaramillo, A. M., Duffy, T., Burgos, J. M., Rodriguero, M., Cardinal, M. V., Kjos, S., Gurgel-Gonçalves, R., Blanchet, D., De Pablos, L. M., Tomasini, N., da Silva, A., Russomando, G., Cuba, C. A. C., Aznar, C., Abate, T., Levin, M. J., Osuna, A., Gürtler, R. E., ... Schijman, A. G. (2010). *Trypanosoma cruzi* I genotypes in different geographical regions and transmission cycles based on a microsatellite motif of the intergenic spacer of spliced-leader genes. *International Journal for Parasitology*, 40(14), 1599-1607. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.06.006>
- Curtis-Robles, R., Auckland, L. D., Snowden, K. F., Hamer, G. L., & Hamer, S. A. (2018a). Analysis of over 1500 triatomine vectors from across the US, predominantly Texas, for *Trypanosoma cruzi* infection and discrete typing units. *Infection, Genetics and Evolution*, 58, 171-180. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.12.016>
- Curtis-Robles, R., Meyers, A. C., Auckland, L. D., Zecca, I. B., Skiles, R., & Hamer, S. A. (2018b). Parasitic interactions among *Trypanosoma cruzi*, triatomine vectors, domestic animals, and wildlife in Big Bend National Park along the Texas-Mexico border. *Acta Tropica*, 188, 225-233. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.09.002>
- Curtis-Robles, R., Snowden, K. F., Dominguez, B., Dinges, L., Rodgers, S., Mays, G., & Hamer, S. A. (2017). Epidemiology and Molecular Typing of *Trypanosoma cruzi* in Naturally-Infected Hound Dogs and Associated Triatomine Vectors in Texas, USA. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 11(1), e0005298. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005298>
- da Silva Valente, S. A., de Costa Valente, V., & Neto, H. F. (1999). Considerations on the epidemiology and transmission of Chagas disease in the Brazilian Amazon. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94 Suppl 1, 395–398. <https://doi.org/10.1590/s0074-02761999000700077>
- de Souza W. (2008). Electron microscopy of trypanosomes--a historical view. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 103(4), 313–325. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762008000400001>
- Dumonteil, E., Desale, H., Tu, W., Duhon, B., Wolfson, W., Balsamo, G., & Herrera, C. (2021). Shelter cats host infections with multiple *Trypanosoma cruzi* discrete typing units in southern Louisiana. *Veterinary Research*, 52(1), 53. <https://doi.org/10.1186/s13567-021-00923-z>
- Dumonteil, E., Elmayan, A., Majeau, A., Tu, W., Duhon, B., Marx, P., Wolfson, W., Balsamo, G., & Herrera, C. (2020b). Genetic diversity of *Trypanosoma cruzi* parasites infecting dogs in southern Louisiana sheds light on parasite transmission cycles and serological diagnostic performance. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 14(12), e0008932. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008932>
- Dumonteil, E., Pronovost, H., Bierman, E. F., Sanford, A., Majeau, A., Moore, R., & Herrera, C. (2020a). Interactions among *Triatoma sanguisuga* blood feeding sources, gut microbiota and *Trypanosoma cruzi* diversity in southern Louisiana. *Molecular Ecology*, 29(19), 3747-3761. <https://doi.org/10.1111/mec.15582>
- Flores-López, C. A., Mitchell, E. A., Reisenman, C. E., Sarkar, S., Williamson, P. C., & Machado, C. A. (2022). Phylogenetic diversity of two common *Trypanosoma cruzi* lineages in the Southwestern United States. *Infection, Genetics and Evolution*, 99, 105251. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2022.105251>

- Garcia, M. N., Burroughs, H., Gorchakov, R., Gunter, S. M., Dumonteil, E., Murray, K. O., & Herrera, C. P. (2017). Molecular identification and genotyping of *Trypanosoma cruzi* DNA in autochthonous Chagas disease patients from Texas, USA. *Infection, Genetics and Evolution*, 49, 151-156. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.01.016>
- Gascon, J., i Pinazo, M.-J. (2015). Chagas disease: From Latin America to the world. *Reports in Parasitology*, 7. <https://doi.org/10.2147/rip.s57144>
- Hernández, C., Cucunubá, Z., Flórez, C., Olivera, M., Valencia, C., Zambrano, P., León, C., & Ramírez, J. D. (2016). Molecular Diagnosis of Chagas Disease in Colombia: Parasitic Loads and Discrete Typing Units in Patients from Acute and Chronic Phases. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004997>
- Herrera, C., Bargues, M. D., Fajardo, A., Montilla, M., Triana, O., Vallejo, G. A., & Guhl, F. (2007). Identifying four *Trypanosoma cruzi* I isolate haplotypes from different geographic regions in Colombia. *Infection, Genetics and Evolution*, 7(4), 535–539. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2006.12.003>
- Herrera, C., Majeau, A., Didier, P., Falkenstein, K. P., & Dumonteil, E. (2019). *Trypanosoma cruzi* diversity in naturally infected nonhuman primates in Louisiana assessed by deep sequencing of the mini-exon gene. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 113(5), 281-286. <https://doi.org/10.1093/trstmh/try119>
- Herrera, C. P., Licon, M. H., Nation, C. S., Jameson, S. B., & Wesson, D. M. (2015). Genotype diversity of *Trypanosoma cruzi* in small rodents and *Triatoma sanguisuga* from a rural area in New Orleans, Louisiana. *Parasites & Vectors*, 8(1), 123. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0730-8>
- Herwaldt B. L. (2001). Laboratory-acquired parasitic infections from accidental exposures. *Clinical microbiology reviews*, 14(4), 659–688. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.3.659-688.2001>
- Hodo, C. L., Bañuelos, R. M., Edwards, E. E., Wozniak, E. J., & Hamer, S. A. (2020). PATHOLOGY AND DISCRETE TYPING UNIT ASSOCIATIONS OF *TRYPANOSOMA CRUZI* INFECTION IN COYOTES (*CANIS LATRANS*) AND RACCOONS (*PROCYON LOTOR*) OF TEXAS, USA. *Journal of Wildlife Diseases*, 56(1), 134-144. <https://doi.org/10.7589/2019-03-071>
- Hodo, C. L., Wilkerson, G. K., Birkner, E. C., Gray, S. B., & Hamer, S. A. (2018). *Trypanosoma cruzi* Transmission Among Captive Nonhuman Primates, Wildlife, and Vectors. *EcoHealth*, 15(2), 426-436. <https://doi.org/10.1007/s10393-018-1318-5>
- Lewis, M. D., Llewellyn, M. S., Yeo, M., Acosta, N., Gaunt, M. W., & Miles, M. A. (2011). Recent, independent and anthropogenic origins of *Trypanosoma cruzi* hybrids. *PLoS neglected tropical diseases*, 5(10), e1363. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001363>
- Lima-Cordón, R. A., Cahan, S. H., McCann, C., Dorn, P. L., Justi, S. A., Rodas, A., ... Stevens, L. (2021). Insights from a comprehensive study of *Trypanosoma cruzi*: A new mitochondrial clade restricted to north and Central America and genetic structure of TCI in the region. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 15(12) : e0010043. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010043>
- Messenger, L. A. i Miles, M. A. (2015). Evidence and importance of genetic exchange among field populations of *Trypanosoma cruzi*. *Acta tropica*, 151, 150–155. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.05.007>

- Meyers, A. C., Meinders, M., & Hamer, S. A. (2017). Widespread *Trypanosoma cruzi* infection in government working dogs along the Texas-Mexico border: Discordant serology, parasite genotyping and associated vectors. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *11*(8), e0005819. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005819>
- Meyers, A. C., Purnell, J. C., Ellis, M. M., Auckland, L. D., Meinders, M., & Hamer, S. A. (2020). Nationwide Exposure of U.S. Working Dogs to the Chagas Disease Parasite, *Trypanosoma cruzi*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *102*(5), 1078-1085. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0582>
- Moreira, D., López-García, P., & Vickerman, K. (2004). An updated view of kinetoplastid phylogeny using environmental sequences and a closer outgroup: proposal for a new classification of the class Kinetoplastea. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *54*(Pt 5), 1861–1875. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63081-0>
- 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>
- Organització mundial de la salut (2012). Research priorities for Chagas disease, human African trypanosomiasis and leishmaniasis. *World Health Organization technical report series*, (975), v–100.
- Organització mundial de la salut: La Enfermedad de Chagas (trypanosomiasis Americana). (6 d'abril de 2023). [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))
- Pronovost, H., Peterson, A. C., Chavez, B. G., Blum, M. J., Dumonteil, E., & Herrera, C. P. (2020). Deep sequencing reveals multiclonality and new discrete typing units of *Trypanosoma cruzi* in rodents from the southern United States. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, *53*(4), 622-633. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2018.12.004>
- Rassi, A., Jr, Rassi, A., & Marin-Neto, J. A. (2010). Chagas disease. *Lancet*, *375*(9723), 1388–1402. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60061-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60061-X)
- Rodriguez, F., Luna, B. S., Calderon, O., Manriquez-Roman, C., Amezcua-Winter, K., Cedillo, J., Garcia-Vazquez, R., Tejada, I. A., Romero, A., Waldrup, K., Watts, D. M., Khatchikian, C., & Maldonado, R. A. (2021). Surveillance of *Trypanosoma cruzi* infection in Triatomine vectors, feral dogs and cats, and wild animals in and around El Paso county, Texas, and New Mexico. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *15*(2), e0009147. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009147>
- Roellig, D. M., Savage, M. Y., Fujita, A. W., Barnabé, C., Tibayrenc, M., Steurer, F. J., & Yabsley, M. J. (2013). Genetic Variation and Exchange in *Trypanosoma cruzi* Isolates from the United States. *PLOS ONE*, *8*(2), e56198. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056198>
- Schofield, C. J., & Dias, J. C. (1999). The Southern Cone Initiative against Chagas disease. *Advances in parasitology*, *42*, 1–27. [https://doi.org/10.1016/s0065-308x\(08\)60147-5](https://doi.org/10.1016/s0065-308x(08)60147-5)
- Segovia-Saiz, C., Briones-Vozmediano, E., Pastells-Peiró, R., González-María, E., & Gea-Sánchez, M. (2020). Techo de Cristal y desigualdades de género en la carrera profesional de las mujeres académicas e investigadoras en Ciencias Biomédicas. *Gaceta Sanitaria*, *34*(4), 403–410. <https://doi.org/10.1016/j.gaceta.2018.10.008>

- Shender, L. A., Lewis, M. D., Rejmanek, D., & Mazet, J. A. K. (2016). Molecular Diversity of *Trypanosoma cruzi* Detected in the Vector *Triatoma protracta* from California, USA. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *10*(1), e0004291. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004291>
- UNESCO. (2015). *UNESCO science report: Towards 2030*. [Informe]. UNESCO Publishing.
- Vandermark, C., Zieman, E., Boyles, E., Nielsen, C. K., Davis, C., & Jiménez, F. A. (2018). *Trypanosoma cruzi* strain TcIV infects raccoons from Illinois. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, *113*, 30-37. <https://doi.org/10.1590/0074-02760170230>
- Vianna Martins, A., Patrícia Gomes, A., de Mendonça, E., Rangel Fietto, J., Alberto Santana, L., de Almeida Oliveira, M., Geller, M., Freitas Santos, R., Roger Vitorino, R., & Siqueira-Batista, R. (2012). Biology of *Trypanosoma cruzi*: An update. *Infectio*, *16*(1), 45–58. [https://doi.org/10.1016/s0123-9392\(12\)70057-7](https://doi.org/10.1016/s0123-9392(12)70057-7)
- Zecca, I. B., Hodo, C. L., Slack, S., Auckland, L., Rodgers, S., Killets, K. C., Saunders, A. B., & Hamer, S. A. (2020a). Prevalence of *Trypanosoma cruzi* infection and associated histologic findings in domestic cats (*Felis catus*). *Veterinary Parasitology*, *278*, 109014. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.109014>
- Zecca, I. B., Hodo, C. L., Slack, S., Auckland, L., & Hamer, S. A. (2020b). *Trypanosoma cruzi* infections and associated pathology in urban-dwelling Virginia opossums (*Didelphis virginiana*). *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, *11*, 287-293. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2020.03.004>
- Zingales, B. (2018). *Trypanosoma cruzi* genetic diversity: Something new for something known about Chagas disease manifestations, serodiagnosis and drug sensitivity. *Acta Tropica*, *184*, 38–52.
- Zingales, B., Andrade, S. G., Briones, M. R., Campbell, D. A., Chiari, E., Fernandes, O., Guhl, F., Lages-Silva, E., Macedo, A. M., Machado, C. R., Miles, M. A., Romanha, A. J., Sturm, N. R., Tibayrenc, M., Schijman, A. G., & Second Satellite Meeting (2009). A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, *104*(7), 1051–1054. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762009000700021>
- Zingales, B., Miles, M. A., Campbell, D. A., Tibayrenc, M., Macedo, A. M., Teixeira, M. M. G., Schijman, A. G., Llewellyn, M. S., Lages-Silva, E., Machado, C. R., Andrade, S. G., & Sturm, N. R. (2012). The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infection, Genetics and Evolution*, *12*(2), 240–253.