

Tripanosomiasis rangeli*

por

Rodrigo Zeledón**

(Recibido para su publicación el 5 de Noviembre de 1954)

INTRODUCCION

Durante nuestra permanencia en el Laboratorio de Protozoología del Instituto Oswaldo Cruz de Río de Janeiro, tuvimos oportunidad de llevar a cabo algunas observaciones y experiencias con una cepa colombiana de *Trypanosoma ariarii* conservada en medio de Noguchi en aquel laboratorio y que nos fuera cedida gentilmente, para tales fines, por el Dr. Julio Muniz a quien agradecemos cumplidamente. Tal hecho nos llevó a revisar alguna literatura sobre este nuevo tripanosoma humano y el que hasta ese momento era conocido por *T. rangeli* Tejera, llamándonos la atención desde el principio, las discrepancias existentes entre los autores que se han ocupado de esos estudios. Tales diferencias no sólo se refieren a la interpretación de las investigaciones realizadas y a las conclusiones de las mismas, sino también a métodos empleados y a sistemas seguidos. Creímos pues de interés, revisar esos datos cronológicamente y tratar de darles un orden adecuado, poniendo de relieve los puntos positivos y aprovechables, aclarando algunos otros y dando una crítica adecuada de aquellos que, a nuestro modo de ver, contribuyen a aumentar el caos en el tema.

Tiempo después, y ya habiendo abandonado nuestras experiencias con el *T. ariarii*, fue puesta a nuestra disposición por parte del Dr. Herman Lent, jefe del Laboratorio de Entomología del mismo Instituto, una cepa de *T. rangeli* que le fuera enviada por el Prof. Félix Pifano de Venezuela. En esas condiciones, y con un mejor conocimiento del asunto, encaminamos algunas investigaciones

* Trabajo realizado en la Sección de Entomología de la División de Zoología Médica del Instituto Oswaldo Cruz.

** Cátedra de Entomología de la Fac. de Ciencias de la Universidad de Costa Rica de las mismas, sino también a métodos empleados y a sistemas seguidos. Creímos pues de interés, revisar esos datos cronológicamente y tratar de darles un orden adecuado, poniendo de relieve los puntos positivos y aprovechables, aclarando

hacia aspectos más interesantes y más concretos del problema parasitológico, investigaciones esas que aparecen también relatadas al final de estas líneas.

Queremos dejar constancia de nuestro agradecimiento al Dr. Herman Lent, no sólo por la gentileza mencionada, sino también por la revisión del original de este trabajo y por las sugerencias anotadas en el mismo.

REVISION CRITICA DE LA LITERATURA

RESEÑA HISTORICA

Examinando TEJERA en 1920 (53) el contenido intestinal de numerosos ejemplares de *Rhodnius prolixus* en Venezuela, encontró, además de las formas típicas del *Schizotrypanum cruzi* Chagas, 1909, un flagelado de morfología diferente. En algunos insectos procedentes de Burua (Estado Zulia) y de la Cabrera (Estado Aragua), encuentra infestación pura por el nuevo tripanosómido, acentuado así mejor las diferencias.

Describe el autor, al hacer la disección de los triatóminos, las diversas formas evolutivas del flagelado: tipo leishmanioide, critidias, formas de transición, y por fin las que interpreta como tripanosomas metacíclicos. Las medidas que TEJERA indica tanto para las critidias (18-19 μ de longitud), como para las formas de tripanosoma (25-35 μ) a juzgar por los diseños en cámara clara que acompañan al trabajo, no parecen corresponder a la realidad, apareciendo estas medidas como menores. En otras palabras, si observamos los diseños de TEJERA, vamos a notar una falta de correspondencia entre éstos y la escala respectiva, apreciándose fácilmente que el tamaño de los ejemplares es mayor que aquel que el autor obtuvo en sus medidas (ver fig. 2 del trabajo original de TEJERA).

El mismo TEJERA hace sobresalir, en la morfología del nuevo flagelado, las pequeñas dimensiones del blefaroplasto en cualesquiera de sus formas evolutivas y asimismo llama la atención para el hecho de ser la extremidad posterior muy afilada y estar el blefaroplasto bastante alejado de la misma en las formas de tripanosoma. Dada la circunstancia de que en la mayoría de los ejemplares por él observados el blefaroplasto no se aleja mucho del núcleo, o bien en muchas de las formas está a la misma altura o es anterior a él, no sabe si se trata de un *Trypanosoma* o de una *Critidia* y propone llamarlo *Trypanosoma* (ou *Critidia*) *Rangeli* en honor del investigador venezolano R. Rangel. Lanza el autor además la hipótesis de una posible fase del flagelado en un vertebrado.

Otros datos interesantes observados por TEJERA, fueron el que los ejemplares de *Rhodnius* provenientes de zonas altas estaban libres de infestación, y el efecto esterilizante que el ayuno del insecto ejercía sobre el *T. rangeli*, cosa que no acontecía para el *S. cruzi*. El autor tampoco vió las formas de división del nuevo protozoario.

GAMINARA (23) en 1923 realizó estudios en el Uruguay sobre los fla-

gelados hallados en *Triatoma infestans* y en *T. rubrovaria*, atribuyendo todas las formas que describe al *S. cruzi*. Al referirse a los flagelados encontrados por Lafont en la Isla Mauricio en heces de *T. rubrofasciata*, y por TEJERA en Venezuela en *R. prolixus* cree el autor que no hay evidencias suficientes para considerarlos como diferentes de los de Chagas y ya en particular sobre el *T. rangeli* de TEJERA expresa:

"Como vemos, el asunto no está aún definitivamente aclarado, necesitando nuevas y minuciosas investigaciones para saber si la infección de las triatomas es única o múltiple; pero aún suponiendo exacta la infección mixta, los flagelados encontrados en las Uruguayas responden exactamente a las formas evolutivas descritas por Chagas".

No hallamos pues razón para afirmar que GAMINARA observó por segunda vez en el mundo el *T. rangeli*. Posiblemente lo que ha llevado a esta interpretación a varios investigadores, ha sido algunas de las formas de critidia que el autor uruguayo describe como siendo de extremidades muy agudas, alcanzando según él, excepcionalmente, dimensiones hasta de 50 y 60 μ y que califica de "formas parecidas a las encontradas por TEJERA en *Rhodnius prolixus*". Sin embargo observando los diseños que GAMINARA refiere al hacer sus consideraciones, nos encontramos con formas típicas del *S. cruzi* e inclusive la "critidia grande" no presenta las características tan próximas del *T. rangeli* y sus medidas, a juzgar por las formas leishmanioides que aparecen al lado dibujadas, según él del tamaño de un glóbulo rojo, dan la impresión de estar un poco exageradas. (ver Lam. III, figs. 1, 2 y 3 del trabajo de GAMINARA).

Hoy día sabemos que, por el examen a fresco de material de insectos, a veces algunas de las formas de critidia del *S. cruzi*, por sus dimensiones y su aspecto, hacen recordar las formas que corresponderían a las de *T. rangeli*. Tales critidias grandes y aún de extremidades agudas se encuentran descritas, con los respectivos diseños, en el excelente trabajo original de CHAGAS (5) como ocurriendo de vez en cuando en las fases evolutivas del *S. cruzi* en el insecto; pero los demás caracteres, establecen bien la diferencia entre uno y otro tripanosómido, (ver estampa 13, figs. 19 y 20 del trabajo de CHAGAS).

Posiblemente entonces, fue en Colombia en donde se vió por segunda vez las formas del invertebrado del *T. rangeli*. URIBE-PIEDRAHITA (58) las describe junto con las del *S. cruzi* en 1929, en el mismo *R. prolixus* en ejemplares provenientes de El Prado (Tolima). No nos fue posible consultar ese trabajo que juzgamos a través de su título¹.

REY-MATIZ & UCROS-GUZMAN (51) en el mismo país, y en 1939, en una nota previa, reportan el hallazgo de la misma especie de triatómino presen-

¹ Es frecuente encontrar en la literatura, referencia a una cita bibliográfica atribuyendo a C. URIBE el hallazgo del *T. rangeli* por la primera vez en Colombia. Como la fecha que se da del trabajo de este autor es un poco incierta, procuramos confirmar el dato, encontrándonos conque no existe en la época que se pretende ninguna alusión a ese tripanosómido y la cita exacta del trabajo en cuestión, que no es de 1923 como algunos pretenden, ni de 1928 como lo hacen otros, y que encierra una serie de observaciones sobre ejemplares venezolanos de *R. prolixus* y no tiene nada que ver con Colombia, es la siguiente: URIBE, C. 1926. On the biology and life history of *Rhodnius prolixus* Stal. *Jour Parasit.*, 13(2):129-136.

tando infestaciones mixtas o puras por los mismos flagelados provenientes de las regiones de Choachí, La Unión, y Fómeque del oriente de Cundinamarca. En las inoculaciones a animales referidas por los autores, se encontró siempre infección positiva sólo por *S. cruzi*, que según ellos predominaba en los insectos.

REY-MATIZ en 1941 y en un trabajo más amplio (52), se refiere a múltiples tentativas de inoculación del *T. rangeli* a diversos animales con material proveniente de *Rhodnius*, con resultados siempre negativos. Afirma que el tripanosoma está ampliamente distribuido en el territorio colombiano, dando cifras demostrativas del alto porcentaje de infestación que los insectos presentaban. Describe las diversas formas intestinales en el insecto, correspondiendo bien a las de TEJERA y da 43 μ . como media, para el tamaño de las formas de tripanosoma, sobre 74 ejemplares medidos. Llama la atención para la menor movilidad de los metacíclicos del *T. rangeli* en relación a los del *S. cruzi*, y en todo caso, insiste sobre la importancia de la coloración para llevar a cabo una diferenciación exacta. El mismo REY-MATIZ encuentra por la primera vez, formas evolutivas del *T. rangeli* en las glándulas salivares de dos ejemplares de *Rhodnius*, y además, formas intestinales que considera intracelulares. Al final, el autor describe someramente un tripanosoma de tipo "lewisi" hallado en un dasipróctido (*Dasyprocta variegata*), que no infectó animales ni evolucionó en *Rhodnius*.

PIFANO (45) en un trabajo sobre la enfermedad de Chagas en el estado de Yaracuy, Venezuela, en 1941, también se refiere a flagelados encontrados hacía algún tiempo en el intestino de *R. prolixus*, algunos de los cuales poseían las características del *T. rangeli* de TEJERA, pero que consideró en ese entonces como formas atípicas del *S. cruzi* ya que las inoculaciones sólo revelaron este último tripanosoma. Es muy posible, como el mismo PIFANO posteriormente lo reconoce, que se tratara de infestaciones mixtas por los dos flagelados y por consiguiente la segunda observación del *T. rangeli* en Venezuela.

DATOS PRELIMINARES SOBRE OTROS TRIPANOSOMAS QUE EVOLUCIONAN EN *RHODNIUS*

En 1941 FLOCH y col. en la Guayana Francesa, dan inicio a una serie de investigaciones sumamente interesantes sobre tripanosomas encontrados en mamíferos, algunos de los cuales han sido capaces de evolucionar en triatóminos.

FLOCH (14) describe primero su *T. advieri* de 28 μ . de largo y de tipo "lewisi", encontrado en la sangre de un mono (*Ateles paniscus*) y que él diferencia de los siguientes tripanosomas: *T. prowazecki*, *T. lesourdi*, *T. devei*, *T. minasense*, *T. mycetæ* y *S. cruzi*. Luego, los autores de la Guayana Francesa (15) describen un nuevo tripanosoma también de tipo "lewisi" pero de talla mayor (49 μ de largo) en un hormiguero (*myrmecophaga tridactyla*) y que distinguen del *T. legeri* de Mesnil y Brimont. Además de su talla, el tripanosoma presentaba como características, un blefaroplasto no terminal y extremidad posterior afilada. Con sangre del animal inoculan un cobayo que da resultado de los siguientes tripanosomas: *T. prowazecki*, *T. lesourdi*, *T. devei*, *T.*

tado negativo; un xenodiagnóstico es practicado en el hormiguero con 2 larvas de *R. prolixus* de 2º estadio, y al 20º día en una de ellas, son encontrados flagelados en las deyecciones, diferentes de las formas evolutivas del *S. cruzi*. Algunas de esas formas alcanzaban 60 μ . de largo y el material proveniente de insectos inoculado en cobayo y rata blanca acusó siempre resultados negativos. No les fue posible, en esa oportunidad, ver formas de tripanosoma. Creen que las formas del insecto son muy parecidas a las encontradas por TEJERA en *Rhodnius*, pero llaman la atención sobre las menores dimensiones que aquel autor da en su trabajo, como posible diferenciación. Como TEJERA no conoció la forma sanguícola, no pueden concluir en la identidad de los dos flagelados.

En una continuación del trabajo anterior, FLOCH & ABONNENC (16) hallan las formas metacíclicas del *T. myrmecophagæ*, como denominan al nuevo tripanosoma, en el *Rhodnius* que se infectara en el hormiguero. Nuevas tentativas de inoculaciones dieron resultados negativos (exámenes directos y xenodiagnósticos). Además, de un nuevo mono (*Cebus* sp) aislan por xenodiagnóstico un flagelado con formas criticidia y tripanosomas metacíclicos que recuerdan al del hormiguero y al de TEJERA. No descubren sin embargo las formas sanguícolas. Las inoculaciones de este otro tripanosoma a animales de laboratorio también dieron resultados negativos.

PRIMEROS CASOS HUMANOS

Según citan MONTENEGRO (42) y PEÑALVER y col. (43), en 1942, ROMEO DE LEÓN publica una "nota preliminar acerca de la Enfermedad de Chagas en Guatemala" en la cual parece dar a conocer casos humanos de tripanosomiasis, observados por él en 1934 y en 1936, en aquel país centroamericano, causados por otro tripanosoma morfológicamente diferente del *S. cruzi*. (35).

Un año después, 1943, aparece publicada la Tesis de MONTENEGRO (42) en el mismo país, que también da nota sobre el mismo tripanosoma observado primero por DE LEÓN como ya quedó dicho. En esa oportunidad, MONTENEGRO relata inoculaciones negativas en animales de laboratorio (rata blanca, cobayo, conejo silvestre, conejo doméstico, ratones) a partir de heces de triatóminos encontrados naturalmente infectados (*T. dimidiata*, *R. prolixus*). Los pocos resultados positivos obtenidos revelaron únicamente el *S. cruzi*. Se refiere además, a las diferencias existentes entre las formas evolutivas del tripanosoma de Chagas y las del nuevo tripanosoma de Guatemala en los transmisores invertebrados, llamando la atención para el aspecto más alargado de este último y para su blefaroplasto puntiforme. También establece MONTENEGRO, diferencias nítidas entre las formas sanguíneas del *S. cruzi* y lo que él llama a través de su trabajo *Trypanosoma* sp. A este último, que describe como un tripanosoma alargado y delgado, atribuye una longitud de 42 μ ., y señala que el blefaroplasto

puntiforme, se encuentra algo alejado de la extremidad posterior (7 μ .) y la membrana ondulante presenta hasta 5 ondulaciones. La microfotografía dada por el autor, evidencia perfectamente las diferencias por él apuntadas.

Queda establecida entonces, la relación entre los tripanosomas observados años antes por DE LEÓN en seres humanos y los grandes y finos flagelados de los triatóminos guatemaltecos, que no infectaban experimentalmente animales de laboratorio, como lo hace el *S. cruzi*. Más adelante veremos la importancia que tiene este hecho fundamental, señalado en forma categórica por MONTENEGRO en su Tesis, al expresar:

"Es evidente que este *Trypanosoma sp.* encuentra el huésped invertebrado también en *Triatoma y Rhodnius*, puesto que allí hemos logrado el hallazgo de las formas evolutivas de leishmanias, crithidias, y tripanosomas metacíclicos."

Así las cosas, en diciembre de 1943, DIAS y TORREALBA (11) reportan el hallazgo del *T. rangeli* en un xenodiagnóstico practicado a una niña de 11 meses, residente en un lugar llamado La Roqueña, cerca de Zaraza, Estado Guárico de Venezuela. Esta niña había pasado el período agudo de enfermedad de Chagas y en uno de los xenodiagnósticos de los practicados en ella, y que fuera remitido desde Venezuela al Brasil al Dr. E. Días, se encontraron, además del *S. cruzi*, las formas características del *T. rangeli*. Los preparados en cuestión, por un azar afortunado, fueron examinados por el propio TEJERA quien confirmó tratarse de su tripanosoma. Las crithidias alcanzaban un tamaño medio de 57,3 μ . En todos los animales inoculados sólo pudieron observarse formas correspondientes a las del *S. cruzi* con ligera variación biométrica. Haciendo algunas consideraciones sobre el caso, los autores lanzan la hipótesis de que el *T. rangeli* sea un *Schizotrypanum* que produce en determinadas condiciones "formas atípicas e inconstantes en el invertebrado", representadas principalmente por las grandes crithidias. Hoy día sabemos sin embargo, que el *T. rangeli* es un tripanosómido bien individualizado, con características propias en el vertebrado y con características biológicas especiales, lo que invalida la hipótesis que trató de explicar su comportamiento en aquel entonces. Debemos aceptar pues, que este caso, fue una paciente con infección mixta por el *S. cruzi* y el *T. rangeli*, como lo han señalado ya otros autores.

En 1946, en un trabajo presentado al Primer Congreso Interamericano de Medicina celebrado en Brasil, ROMEO DE LEÓN (36) confirma nuevamente el hallazgo de los primeros casos de la tripanosomiasis por los años de 1934 (primer caso de Sanarate, Departamento de El Progreso, Guatemala) y de 1935 (1936?) (3 casos más de la aldea El Conacaste, del mismo Municipio de Sanarate). Una vez más DE LEÓN acentúa las diferencias morfológicas entre el nuevo tripanosoma y el *S. cruzi* y da la medida de 35 μ . para la forma sanguínea del primero. Se refiere además a inoculaciones positivas únicamente a ratón blanco y gris, con "lesiones en fibra cardiaca" (*S. cruzi*?). Debemos advertir desde ahora, que el autor a través de su trabajo usa la denominación de enfermedad de Chagas, indistintamente para aquellos casos que presentaban tripanosomas en la sangre, a pesar de insistir en diferencias, no sólo del pará-

sito nuevo con el *S. cruzi*, sino que también, en ciertos aspectos de los cuadros clínicos de sus casos (7 hasta ese momento), comparados con los de otros países. Eso se explica porque el autor hasta ese momento siempre tuvo sus dudas de si en realidad se trataba de dos entidades mórbidas y de dos agentes etiológicos distintos. A pesar de todo, propone el nombre de *T. guatemalensis* (más correctamente *T. guatemalense*) para el protozoo encontrado por él y da algunas microfotografías que ponen en evidencia una vez más, las diferencias morfológicas existentes entre ambos tripanosomas humanos. DE LEÓN reporta en esta oportunidad, el cultivo con suceso del nuevo tripanosoma en medio de N.N.N.

Vale la pena señalar aquí, que a pesar de que la Tesis de MONTENEGRO fue dirigida por DE LEÓN, existen en ella algunas opiniones contradictorias con las de este autor, según el trabajo que acabamos de mencionar (36). Así, MONTENEGRO establece que el caso humano de 1934 presentó en la gota espesa tripanosomas idénticos al *S. cruzi*, mientras DE LEÓN insiste en que se trataba de otro tripanosoma "con características sustancialmente distintas" a las del tripanosoma de Chagas. Por otro lado, MONTENEGRO da 43 μ . para el tamaño del nuevo tripanosoma (forma sanguínea) para la cual DE LEÓN da 35 μ . Además de eso, los otros 3 casos que MONTENEGRO refiere como habiendo sido encontrados por DE LEÓN en 1936, este autor los data de 1935.

NUEVAS INVESTIGACIONES DE VENEZUELA, GUAYANA FRANCESA Y GUATEMALA

PIFANO y col. (46) han extendido las investigaciones sobre el *T. rangeli* en *R. prolixus* en Venezuela, según ellos, a partir de 1944. Así, encuentran insectos infectados en el caserío Las Adjuntas, cerca de Santa Lucía (Estado Aragua) en aquel año; en el caserío Mococo, próximo de Guanare (Estado Portuguesa) en 1945; y en el caserío Cogollal, Norte de Cuarenas (Estado Miranda) en 1946. No fue sino hasta 1948 que los autores dan a conocer esos datos, a propósito del primer caso de tripanosomiasis rangeli comprobado por cultivo de sangre periférica: una niña de 12 años natural de Zaraza (Estado Guárico), que a la edad de 18 meses había presentado una enfermedad de Chagas comprobada parasitológicamente por xenodiagnóstico. De dos nuevos xenodiagnósticos practicados en distintas fechas en este caso, el primero fue negativo y el otro positivo débil (2 larvas con poca infestación por un flagelado). Los dos cultivos en cambio, practicados al mismo tiempo que los xenodiagnósticos con medio N.N.N., dieron ambos crecimiento a formas puras y abundantes del *T. rangeli*.

Todas las tentativas de inoculación de los autores venezolanos en diversos animales (cobayos jóvenes, ratones, ratas blancas recién nacidas y adultas, ratas grises, lagartos, pollos, un gato) a partir de formas del contenido intestativo y el otro positivo débil (2 larvas con poca infestación por un flagelado).

tinal de los *Rhodnius*, o de los cultivos, fueron negativas. En ningún otro triatómino los autores encontraron infestación por el *T. rangeli*.

Logran mantener una cepa pura de *T. rangeli* por inoculaciones intrarrectales con pipeta capilar, de material proveniente de *Rhodnius* infectados, a insectos limpios.

Los autores describen prolijamente las formas por ellos observadas en los insectos. Tanto en las formas redondeadas de 5 a 6 μ ., en las piriformes, de 6 a 8 μ . en las diversas critidias (cortas y largas de los autores) y en los tripanosomas, el blefaroplasto es pequeño y puntiforme, aunque a veces un poco alargado en las formas redondeadas y en las piriformes.

Las critidias largas, oscilaron en longitud entre 31,54 μ . y 58,12 μ . de material proveniente de *Rhodnius* y en estas formas, como en los tripanosomas (43,67 μ), es extraordinario el desarrollo con adelgazamiento progresivo que alcanza la extremidad posterior y que por tal hecho, en opinión de los autores, "no siempre se puede reconocer su terminación en las preparaciones coloreadas". Estas critidias, agregan los autores, presentan como característico la gran variación de tamaño y la "estrechez de su forma". En los medios de cultivo, los parásitos son sensiblemente semejantes a los encontrados en las deyecciones de los *Rhodnius*. Las critidias en este caso alcanzaron una longitud entre 28,22, y 53,12 μ . y los tripanosomas entre 33,2 y 66,4 μ .

Haciendo medidas curvimétricas sobre los dibujos de TEJERA, y aunque sin dar ningún comentario al respecto, PIFANO y col obtienen critidias de 25 a 31 μ . más el flagelo libre de 2 a 4 μ ., y para las formas más largas 38 a 52 μ . con flagelo libre de 4 a 10 μ . Esto viene a confirmar nuestras ideas expresadas al principio de estas líneas, con respecto a los errores de las medidas de TEJERA.

Además de este caso reportado por PIFANO y col. (46) en esa misma oportunidad los autores relatan 2 xenodiagnósticos más, positivos por el *T. rangeli*, practicados por MEDINA en Yaracuy, Venezuela, en 1942 (datos que no habían sido publicados hasta ese entonces). Como ya quedó dicho en páginas anteriores, PIFANO había encontrado en la región en 1939, los *Rhodnius* infestados por el *T. rangeli*. Una vez más los autores venezolanos aclaran definitivamente que el *T. guatemalense* encontrado por DE LEÓN en Guatemala en seres humanos, es el mismo *T. rangeli* (Esa opinión la habían externado MAYER & PIFANO en la XII Conferencia Sanitaria Panamericana de 1947, realizada en Caracas).

También en 1948, PIFANO y col. (47) reportan el "primer reservorio vertebrado extra-humano" del *T. rangeli* al encontrar el protozooario en un perro en el Distrito de Bruzual, Estado Yaracuy, Venezuela. El tripanosoma de 41 μ . de longitud total, fue demostrado a fresco y en preparaciones coloreadas. Los autores infectan *Rhodnius* que presentaron las formas típicas del *T. rangeli* y logran cultivos idénticos a los obtenidos a partir de sangre humana. Es dada una descripción completa del parásito encontrado, incluyendo medidas biométricas del mismo.

FLOCH & ABONNENC en 1948 (17), aislan por xenodiagnóstico un tripanosoma de un marsupial (*Didelphis marsupialis*), con formas evolutivas de longitud total, fue demostrado a fresco y en preparaciones coloreadas. Los

en el insecto, diferentes del *S. cruzi* y semejantes a las de *T. myrmecophagæ* y a las de lmono *Cebus* sp. (N 7) y muy próximas de las del *T. rangeli* de TEJERA. Las inoculaciones a cobayo fueron negativas.

Los mismos autores (18) al año siguiente (1949) dan a conocer un interesante caso de un mono (*Cebus* H) parasitado por un tripanosoma de 39,9 μ ., cuya forma sanguínea observan. Los xenodiagnósticos practicados revelaron primero un flagelado largo de blefaroplasto puntiforme y luego otro menor de blefaroplasto voluminoso. Ambos tripanosomas fueron capaces de reaparecer en los animales inoculados (cobayo, rata blanca y un didélfido), siendo recuperados nuevamente por xenodiagnóstico. Un dato interesante es que las formas del primer tripanosoma que aparecieron en los insectos del nuevo xenodiagnóstico, practicado a un cobayo inoculado, tenían dimensiones un poco mayores que las originales. Los autores concluyen en que el mono estaba parasitado por dos tripanosomas, uno de ellos del tipo "rangeli", siendo el otro posiblemente un *Schizotrypanum*. Terminan diciendo que es conveniente estudiar aquellos tripanosomas encontrados en triatóminos naturalmente infectados, y semejantes al *T. rangeli*, desde el punto de vista de su comportamiento biológico.

FLOCH & ABONNENC (19) en un trabajo publicado en junio de 1949, resumen los hechos fundamentales de sus hallazgos en la Guayana, hasta esa fecha, sobre tripanosomas de tipo "lewisii" diferentes del *S. cruzi*, encontrados en diversos mamíferos silvestres y que aprovechamos para repetir aquí, en primer lugar reportan la infección de 5 monos de la especie *Midas rufimanus*, dos de ellos con tripanosomas semejantes e identificables al *T. devei* Leger & Porry, 1918 y los otros tres no identificables con ningún otro tripanosoma de monos. (*T. manguinbense*, *T. forestali* etc.). Después, encuentran infectados otros tres monos de la especie *Cebus fulvus* (?). En uno de ellos (*Cebus* 67) los tripanosomas eran semejantes a *T. forestali* Romaña, 1931; otro mono (*Cebus* H) presentó tripanosomas que evolucionaron en triatóminos, capaces de infectar cobayo, rata blanca y un didélfido y en el tercero (*Cebus* N 7) sólo se evidenciaron tripanosomas por xenodiagnóstico y resultaron de morfología muy semejante a la del *T. rangeli* de TEJERA, y no fue transmisible para animales de laboratorio.

Dos monos más (*Ateles paniscus*), fueron encontrados infectados con tripanosomas. Uno de ellos fue descrito como *T. advieri* y el segundo obtenido sólo por xenodiagnóstico y las inoculaciones hasta ese momento habían dado resultados negativos.

De un didélfido habían aislado por xenodiagnóstico otro tripanosoma semejante al *T. rangeli* y por último de un hormiguero, el *T. myrmecophagæ*. En síntesis, los tripanosomas del segundo y tercer *Cebus* (*Cebus* H y *Cebus* N° 7 de los autores), del segundo (*Ateles* N° 186), del hormiguero y del didélfido, en su evolución en el invertebrado presentaron una morfología atribuible al *T. rangeli*. Ahora bien, las formas sanguíneas del *Cebus* H. y del hormiguero, fueron conocidas y bastante diferentes entre sí (las del *Cebus* además de ser infectantes para animales de experimentación, son más pequeñas). Debido a que el *T. rangeli* de TEJERA (forma del invertebrado) no infectaba en ese entonces

animales de laboratorio ni tampoco el *T. rangeli* de PIFANO (forma del vertebrado: perro) consideran la especie del segundo *Cebus* (*Cebus* H.) como diferente y proponen para ella la denominación de *T. cebus*.

En otras palabras, dos de los tripanosomas capaces de evolucionar en triatóminos fueron conocidos en su forma sanguínea, el del *Cebus* H (*T. cebus*) y el del hormiguero (*T. myrmecophagæ*); los otros tres, del *Cebus* N° 7, del *Ateles* N° 186 y del didélfido, quedan en interrogante como siendo nuevas especies de tripanosomas propios de esos animales o en fin, posibles formas del del mismo *T. rangeli* en sus reservorios extrahumanos. En todo caso, de los trabajos de los autores de la Guayana Francesa se desprenden los siguientes hechos fundamentales: Que hay otros tripanosomas, tipo "lewisii", además del *T. rangeli*, del *T. conorbini* y del *S. cruzi*, en algunos animales, capaces de evolucionar experimentalmente en triatóminos, dando en ellos formas en todo semejantes a las del flagelado de TEJERA. Que esas formas del invertebrado, también semejantes entre sí, pueden tener en su fase sanguínea en sus diversos huéspedes naturales, morfología distinta (caso del *T. myrmecophagæ* y del *T. cebus*). Y por último, que aquellos tripanosomas individualizados únicamente por xenodiagnóstico, que no se adaptan fácilmente a animales de laboratorio, se comportan hasta el momento, morfológica y biológicamente como el propio *T. rangeli*.

FLOCH & ABONNENC (20) en julio de 1949, llevan a cabo una revisión de los conocimientos hasta aquella fecha sobre la nueva tripanosomiasis americana, llegando a algunas conclusiones interesantes. Creen en primer lugar que no puede afirmarse categóricamente que todos aquellos flagelados encontrados en triatóminos naturalmente infectados, como morfología de *T. rangeli*, pertenezcan a esta especie. Les parece prematuro considerar sinónimos al *T. guatemalense*, al *T. myrmecophagæ*, al *T. cebus* y al *T. rangeli* por sus semejanzas morfológicas en la sangre de los vertebrados o por sus aspectos en el invertebrado hematófago. (Sin embargo, recordemos que los autores encuentran diferencias biométricas bastante grandes, entre las formas sanguíneas del *T. myrmecophagæ* y del *T. cebus*, además de biológicas como ya fue señalado). Por último, FLOCH & ABONNENC no niegan la posibilidad de que *T. guatemalense* y *T. myrmecophagæ* sean sinónimos de *T. rangeli*, pero que en ese caso cabría a ellos la primera observación de la forma sanguínea (forma del vertebrado) de este tripanosoma.

Efectivamente, los datos actuales indican que además del *S. cruzi*, del *T. conorbini* y del *T. rangeli* de TEJERA, hay otros tripanosomas capaces de evolucionar en triatóminos. Eso no anula sin embargo el razonamiento de PIFANO, al creer que el *T. guatemalense* sea la primera forma sanguínea humana observada del *T. rangeli*, el cual tiene una base bastante lógica. Es decir, la aparición de invertebrados transmisores domésticos en los mismos lugares en donde se encuentran los casos humanos (Guatemala, Venezuela, Colombia), infectados naturalmente con flagelados en todo semejantes a los descritos por TEJERA en *Rhodnius* de Venezuela (recordar que esta relación entre los flagelados de los insectos y el nuevo tripanosoma humano, fue primero establecida por MON-

TENEGRO en Guatemala); la observación directa del tripanosoma y su aislamiento por xenodiagnóstico y cultivo, reproduciendo esas mismas formas, a partir de casos humanos y de animales; el comportamiento biológico de los flagelados (inoculaciones) y la semejanza entre las formas sanguíneas venezolanas y guatemaltecas, así parece indicarlo.

Ahora bien, a pesar de que el *T. myrmecophagæ*, en el momento actual tiene algunas de las características del *T. rangeli*, creemos sin embargo que la diferencia de tamaño de las formas sanguíneas de ambos tripanosomas (el *T. myrmecophagæ* es bastante mayor), es suficiente para diferenciarlos. Por otra parte encontramos el *T. cebus* con caracteres más próximos del *T. rangeli*, y a nuestro modo de ver, la diferencia biológica que los separa es completamente aparente ya que FLOCH y col. sólo pudieron recuperar este tripanosoma de los animales inoculados por ellos, con xenodiagnósticos realizados algún tiempo después de las inoculaciones. Más adelante discutimos con detalle el valor relativo de estas "diferencias biológicas aparentes" entre los "tipos" de tripanosomas que nos están ocupando. A no ser por esa diferencia que los autores franceses hacen resaltar, tanto el aspecto de la forma sanguínea y de las formas en los *Rhodnius* como las medidas del *T. cebus*, corresponden bastante bien a las del *T. rangeli*. Nosotros encontramos muy razonable además, pensar que el *T. rangeli* encuentre su huésped vertebrado natural en un mono americano y que de él, por intermedio de invertebrados reduvídeos, en algunos países de nuestro continente, haya pasado al hombre. Este flagelado, conservando gran parte de la especificidad de la mayoría de los tripanosomas del grupo "lewisii", infecta más fácilmente animales zoológica y fisiológicamente vecinos (mono, hombre, perro), y con mayores dificultades otros animales. De otro lado, la tal diferencia biológica entre el *T. cebus* y el *T. rangeli* puede decirse que ha desaparecido después de las recientes experiencias de COUTINHO & NUSSENZWEIG (4) en Brasil, que anotamos más adelante.

Asimismo quedaría la posibilidad de que algún otro de los tripanosomas de monos encontrados por FLOCH y col., capaces de evolucionar en triatóminos y cuya forma sanguínea no se conocé, también sea el mismo *T. rangeli* (Cuadro I).

En un nuevo trabajo FLOCH & ABONNENC (21) dan nota de la infección de *T. rubrofasciata* y de *R. prolixus* por inoculación intrarrectal, con formas del tripanosoma del *Cebus* H. (*T. cebus*) a partir también de invertebrados. Encontraron las formas de desarrollo del protozoario en la hemolinfa de los insectos infectados de ese modo, y en otros que se habían infectado por xenodiagnóstico. La inoculación de ese material a cobayos, no reveló el tripanosoma en la sangre, pero éste se recuperó en un xenodiagnóstico practicado cuatro meses después. También reapareció en los insectos, el *Schizotrypanum* que parasitaba al mismo tiempo al mono *Cebus* H. Los diseños a cámara clara, tanto de las formas sanguíneas del tripanosoma como de sus aspectos en el invertebrado, tienen extraordinaria semejanza con lo que hasta ahora conocemos para el *T. rangeli*, como ya quedó señalado.

CUADRO I

Sinopsis de los principales datos de las experiencias de FLOCH y col. en la Guayana Francesa

Especie de tripanosoma	C A R A C T E R E S			INOCULACIONES EN ANIMALES	
	Huésped natural	Forma sanguínea	Evolución en triatóminos	Con sangre del huésped	Con heces de insectos
<i>T. myrmecophagæ</i>	<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	54,2 μ .	positiva	negativas	negativas
<i>T. sp.</i>	<i>Cebus sp.</i> (N 7)	desconocida	positiva	negativas
<i>T. sp.</i> (<i>T. florestali</i>)	<i>Cebus sp.</i> (N 57)	42,5 μ .	no se hizo xenodiagnóst.
<i>T. cebus</i>	<i>Cebus sp.</i> (H)	39,8 μ .	positiva	negativas
<i>T. sp.</i>	<i>Didelphis sp.</i>	desconocida	positiva	positivas
<i>T. aduievi</i>	<i>Ateles paniscus</i>	2,8 μ .	no se hizo xenodiagnóst.
<i>T. sp.</i>	<i>Ateles paniscus</i>	desconocida	positiva	negativas

..... = No se tienen datos

ROMEO DE LEÓN en noviembre de 1949 (37), hace un relato de las investigaciones en Guatemala sobre el *T. rangeli*. En primer lugar el autor centroamericano se muestra de acuerdo en considerar que el *T. guatemalense* no es más que la forma sanguínea de aquel tripanosoma, tal y como lo establecieron MAYER & PIFANO, reclamando la prioridad para el conocimiento de la forma del vertebrado. DE LEÓN da a conocer algunos aspectos citológicos del flagelado, tanto en el insecto transmisor, como en los medios de cultivo y en sangre periférica humana. Señala algunas especies de triatóminos infectados por xenodiagnóstico con este tripanosoma. *T. dimidiata*, *T. phyllosoma*, y *T. nitida*, dejando así establecida la capacidad del protozooario de evolucionar en el intestino de otras especies de este grupo de hemotófagos. El autor da a conocer lo que él llama "esquizogonía" del *T. rangeli* en los insectos y cultivos, caracterizada por la presencia de masas citoplasmáticas con numerosos núcleos y blefaroplastos (esquizontes del autor guatemalteco), dando diseños representativos de esas fases y usa el argumento para considerar al flagelado en cuestión como un *Schizotrypanum*. Sin embargo sabemos que no es precisamente en las formas del invertebrado en que se basa la definición del género *Schizotrypanum*, por lo que la opinión de DE LEÓN no encuentra ningún apoyo. Las bases del mismo, han sido muy bien discutidas por DIAS en 1934 (7) y en 1939 (8). Por otro lado, DE LEÓN reporta en su trabajo el hallazgo de una forma sanguínea del *T. rangeli* en división, lo que sugiere que este sea el método normal de multiplicación del fla-

gelado. Una serie de animales inoculados hasta ese momento con sangre de pacientes infectados o con formas de cultivos, no dieron más que resultados negativos (conejo, cobayo, rata blanca, ratón blanco, ratón gris criollo, perro, mono rhesus, hamster y un didélfido). El autor no da el método o métodos por los cuales trató de poner en evidencia la infección, que suponemos hayan sido los directos. Por último, DE LEÓN expresa que los 17 casos hasta ese momento encontrados en Guatemala, fueron diagnosticados por el método de gota gruesa, encontrándose en general un solo tripanosoma en cada preparación.

Al hablar de la patogenia de la parasitosis, DE LEÓN confiesa el hallarse los estudios en su fase inicial y en todo caso establece la dificultad de atribuirle características clínicas más o menos definidas (otras parasitosis, etc.) y recuerda casos de individuos que hace muchos años presentaron la infección y en el momento actual están aparentemente sanos. Recordemos aquí que cosas semejantes; sin embargo, suceden con la enfermedad de Chagas, principalmente en Centro América, lo cual no ha restado importancia a la misma en los países en que existe (61).

ROMEO DE LEÓN en 1950 (38) da a conocer un nuevo foco de tripanosomiasis rangeli en las aldeas de Chanrayo y Puertas de Golpe del Municipio de San Agustín, Acasaguastlán, Departamento de El Progreso, Guatemala. Vale la pena llamar la atención de que la primera de esas aldeas en el Valle del río Lato, es un biotopo en todo semejante al presentado por GROOT y col., como Valle del río Ariari en Colombia en donde fueron encontrados numerosos casos humanos parasitados por un tripanosoma diferente del *S. cruzi*, como lo veremos más adelante. DE LEÓN encontró en las localidades citadas de Guatemala, numerosos *R. prolixus* infectados por *T. rangeli* y de los cultivos practicados en niños 3 dieron resultados positivos por este mismo tripanosoma. El autor asegura que en ciertas regiones de Guatemala hay una notable mayor incidencia de casos humanos de tripanosomiasis rangeli que de enfermedad de Chagas. Por disección de insectos altamente infectados, fueron retiradas las glándulas salivares y en ningún caso el autor encontró infección de las mismas por formas evolutivas del *T. rangeli*.

PIFANO y col. (49) en una revisión completa hasta octubre de 1949 sobre la nueva tripanosomiasis en Venezuela, dan a conocer nuevos datos sobre índices de infestación de *R. prolixus* por "rangeli" o por "rangeli-cruzi", así: de 320 larvas, 88 estaban infectadas; de 670 ninfas examinadas 131 fueron positivas; y de 647 adultos 174 estaban infectados. Al recordar las formas por ellos observadas en *Rhodnius*, dicen haber visto tanto tripanosomas como crítidias en división binaria. También relatan no haber podido transmitir el flagelado de invertebrado a invertebrado por herencia, coprofagia o canibalismo.

Hasta junio de ese año, habían comprobado los autores venezolanos 41 casos humanos por xenodiagnóstico: 31 con infección pura y 10 con asociación "cruzi-rangeli". Es de interés señalar, como los autores lo hacen, el hallazgo de infecciones puras por uno de los tripanosomas, que en xenodiagnósticos posteriores revelaban el otro parásito. Las edades extremas de los pacientes en que se demostró el protozoario fueron 10 meses y 45 años respec-

tivamente. Uno de los casos interesantes de PIFANO y col, es el de un niño de 10 años que presentó un xenodiagnóstico positivo para *T. rangeli* 2 años después de haber abandonado el área endémica. Llama la atención el escaso número de parásitos en todos los casos de los autores venezolanos que no pudieron demostrarlos por métodos directos de laboratorio.

Después de encontrar el primer perro infectado en 1948, como ya quedó dicho, examinando algunos más, encuentran 11 positivos por "rangeli" o por "rangeli-cruzi" (6 por *T. rangeli* y 5 por los dos flagelados). Sólo por xenodiagnóstico se puso de manifiesto la infección en estos perros. En el primero de ellos sin embargo, se encontraron tripanosomas por métodos directos con una longitud que varió entre 30 a 38 μ .

A partir de cultivos en medio de Razha-Reichenow, los autores logran las primeras inoculaciones positivas en ratones blancos por vía subcutánea. De los cuatro ratones inoculados, tres se infectaron mostrando parásitos en su sangre periférica, de una semana a diez días después y permaneciendo positivos por algún tiempo. No se observan formas en división ni los pases para otros animales (ratones y perros jóvenes) tuvieron suceso. Según los autores, el medio en cuestión, hace aparecer mayor número de tripanosomas metacíclicos que cualquier otro de los usados por ellos.

En un trabajo publicado a continuación del anterior, PIFANO & MAYER (48) relatan el hallazgo de formas evolutivas del *T. rangeli* en el "jugo de la trompa" de algunos de los *Rhodnius*. De 44 ejemplares infectados con el tripanosoma (puro o asociado) 5 presentaron infección anterior y en uno de ellos, además, en las glándulas salivares. No es exacta la afirmación de los autores:

"... se trata de la primera comprobación de los elementos del ciclo de un tripanosoma en la trompa de triatóminos",

ya que el mismo hecho había sido señalado por REY-MATIZ, varios años antes como se vió al principio de estas líneas. Son varias las formas evolutivas que PIFANO & MAYER encuentran en aquellas regiones del insecto (formas redondas, critidias, tripanosomas) pero el "predominio de las formas tripanosomas", los lleva a pensar en un ciclo evolutivo anterior para este tripanosoma, y tal hecho según los autores explicaría el relativo escaso número de aquellas formas en el contenido intestinal y la falla de las inoculaciones a partir de ese contenido. Los autores además indican que la forma de división corriente que se encuentra en esos lugares es la critidia, sugiriendo que sea en esta fase en que se hace la multiplicación del protozooario, inspirados posiblemente en lo que ocurre con otros tripanosomas transmitidos por moscas del género *Glossina*.

MAYER (40) presentó al 5º Congreso de Microbiología realizado en Río de Janeiro en 1950, una pequeña nota sobre la nueva tripanosomiasis neotrópica producida por el *T. rangeli*. Después de algunas consideraciones generales se refiere a las formas encontradas en los *Rhodnius* de Venezuela e interpreta algunas de ellas (en huso o redondeadas) como posibles "quistes" (?). Refiere inoculaciones experimentales positivas a perros y ratones jóvenes (recién na-

cidos) pero no habían observado formas en división en ellos. En la sangre de vertebrados el tripanosoma mide de 31 a 34 μ . con blefaroplasto pequeño y membrana ondulante desarrollada. Cree por último el autor que este tripanosoma quizás se comporte en el hombre como el *T. lewisi* y el *T. theileri* en sus respectivos huéspedes.

TORREALBA en 1949 (54,55) trabajando también en Venezuela, se refiere a "casos agudos" de tripanosomiasis rangeli diagnosticados por él, algunos de ellos por el hallazgo del tripanosoma por exámenes directos. Este autor insiste en la existencia de manifestaciones clínicas evidentes (fiebre, macropoliadenitis, hepatoesplenomegalia, linfocitosis, anemia) en sus casos, sin haberse podido demostrar en los mismos, el parasitismo concomitante por el *S. cruzi*.

Posteriormente TORREALBA y col. (56) dan a conocer otros casos de la tripanosomiasis, uno de los cuales era una niña que presentó tripanosomas al examen directo con el mismo aspecto morfológico del tripanosoma obtenido por PIFANO y col. en ratones blancos a partir de cultivos de *T. rangeli*. Esa forma sanguínea humana, reprodujo las características del tripanosoma de TEJERA en medios de cultivo y en *Rhodnius* limpios. Como puede deducirse, éstos serían los primeros casos humanos venezolanos, en que pudo demostrarse el *T. rangeli* por exámenes directos de la sangre de los pacientes.

PRIMER CASO COLOMBIANO

En octubre de 1949, aparece el reporte del primer caso humano colombiano de tripanosomiasis rangeli en la publicación de HERNANDEZ DE PAREDES & PAREDES (32). Se trató de un paciente de 35 años, que ingresó al Hospital con fiebre, tos seca y abundante sudor (noviembre de 1947). Posteriormente se observan otros síntomas tales como hepatoesplenomegalia, anemia, edemas maleolares fugaces, adenopatías, signos discretos de alteración cardíaca y leucocitosis con linfocitosis. No fue sino hasta el 5 de marzo de 1948, es decir unos tres meses después, que se hizo un cultivo en medio de Geiman que dió positivo por un tripanosoma en todo semejante al *T. rangeli*.

Si observamos el cuadro clínico anotado para el paciente, veremos que las manifestaciones presentadas pueden ser atribuidas a una enfermedad de Chagas. Ahora bien, tal vez debido al espacio de tiempo que medió entre el apareamiento de los síntomas y el primer cultivo, no pudo aislarse el agente etiológico de la misma, sino que se aisló el *T. rangeli* que posiblemente en un principio se encontraba asociado al *S. cruzi* infectando al enfermo.

Posteriormente se efectuaron otros hemocultivos y xenodiagnósticos también con resultados positivos aparentemente para el mismo tripanosoma aislado la primera vez. De los seis xenodiagnósticos practicados al paciente, tres efectuados con *R. prolixus* fueron positivos, y sólo uno, de los otros tres efectuados con *T. capitata* (*T. dimidiata*) (lecturas realizadas a los 26 días). Se inocularon una serie de animales a partir de sangre de enfermo, heces de los insectos

infectados y con material de cultivos. Sólo en este último caso se obtuvo resultados positivos.

Resumimos a continuación en un cuadro, los principales datos de las experiencias de los autores colombianos (Cuadro 2).

CUADRO II

Resultados de las inoculaciones de H. DE PAREDES & PAREDES

ANIMALES INOCULADOS			TECNICA		RESULTADOS		
Especie	Nº de ejemplares	Edad	Vía de inoculación	Material inoculado	Nº de positivos	Nº de muertos	Método diagnóstico
ratón	138	3-13 días	intraperitoneal	cultivo y heces	22% (*)	2	directos
rata	34	3-60 días	"	cultivo (?)	11%	0	directos
perro	5	1-8 meses	intraperitoneal y subcutánea	"	3 ejem.	0	cultivo y xenodiagnóstico
mono <i>rhesus</i>	2	adultos	intraperitoneal	"	2	0	cultivo y xenodiagnóstico
caballo	1	18 años	subcutánea e intravenosa	"	1	1	cultivo y xenodiagnóstico
novilla	1	12 meses	subcutánea	"	0	0	cultivo y xenodiagnóstico
coyayo	8	3-5 días	intraperitoneal	"	0	0	cultivo y directos
hombre	1	adulto (?)	subcutánea	"	1	0	cultivo y xenodiagnóstico

(*) Este porcentaje se refiere sólo a los animales inoculados con cultivo.

Las medidas obtenidas fueron las siguientes: forma tripanosoma en cultivo 40.5 μ . de media; en insectos infectados 48,92 μ . y en sangre de ratón 40,82 μ . Forma critidia en cultivos: 49,34 μ . de media; en insectos transmisores 49,40 μ . Una microfotografía del tripanosoma en sangre de ratón, deja ver claramente los caracteres típicos de la forma sanguínea del *T. rangeli*.

Los autores opinan que el hecho de no haber puesto en evidencia otro agente causal, habla en favor de la patogenicidad del *T. rangeli* en este caso. Nosotros creemos, repetimos, que posiblemente se trató de una infección mixta por *T. rangeli* y *S. cruzi* y que este último no se pudo poner en evidencia por razones inherentes a su ciclo vital (desaparición de la sangre circulante en tiempo relativamente corto).

T. RANGELI EN ARGENTINA Y CHILE?

BORZONE y col., primero en una nota previa aparecida en 1949 (1) y luego en otro trabajo publicado al año siguiente (2), reportan el hallazgo de

T. rangeli en la Argentina "en hombre y perro" de sus formas de evolución en ejemplares de *T. infestans* de xenodiagnóstico. En comentario al segundo de esos trabajos, el único que nos fué accesible, podemos decir que los datos presentados por los autores no son suficientes para demostrar que realmente se trató de una infección por *T. rangeli*. Lo confuso de la exposición y las incoherencias que se notan en el decorrer del texto del trabajo, hacen dudar más todavía de una identificación correcta. Por otro lado, la fotografía presentada por los autores, de un tripanosoma de "sangre humana" hace recordar más bien, por sus caracteres morfológicos, a los tripanosomas de la gran división "B", de la clasificación de HOARE & COUTELEN (33), es decir un tripanosoma robusto con membrana ondulante bien desarrollada y de blefaroplasto subterminal, bastante distinto por cierto, de las formas sanguíneas conocidas hasta ahora del *T. rangeli*.

GAJARDO-TOBAR & THIERMANN en 1950 (22) reportan el hallazgo de un tripanosoma morfológicamente igual al *T. rangeli*, en insectos de Chile de las especies *T. infestans* y *Mepraia spinolai* de las localidades de Paihuano, Collignay y Río Blanco de aquel país. Los autores refieren que ya habían observado algunos años antes las mismas formas flageladas, diferenciables, aún a fresco, de las correspondientes al *S. cruzi*, en los mismos triatóminos. Vale la pena resaltar que no sólo se encontraron infectadas "vinchucas" domiciliarias, como también silvestres. En un xenodiagnóstico humano, se comprobaron elementos semejantes a las formas de *T. rangeli*, pero no fue posible continuar la observación. Fueron inoculadas 6 ratas blancas con material de los insectos, con resultados negativos por tripanosomas a los métodos directos y sólo uno de los xenodiagnósticos practicados fue positivo por *S. cruzi* (material mezclado?)

A pesar de que la nota de los autores chilenos reúne datos relativamente exigüos, cremos que tiene un gran interés ya que hay dos hechos fundamentales que indican que posiblemente se trató de *T. rangeli*: la morfología de los flagelados en el invertebrado y la dificultad aparente de adaptación a uno de los animales de laboratorio. Después de los trabajos de FLOCH y col., tendríamos que decir, sin embargo, que no se puede asegurar en forma categórica con los datos existentes, que realmente se trató de aquel tripanosoma.

EL ASUNTO DEL *T. ARIARII*

En 1951, GROOT y col. en excelente trabajo (29), dan cuenta de una serie de casos humanos de tripanosomiasis encontrados en el Valle del Río Ariari en Colombia, de los cuales aislan un tripanosoma que denominan *T. ariarii* sp. n. Según los autores, la existencia de esa tripanosomiasis en aquel lugar ya había sido dada a conocer por RENJIFO y col. (50) y por GROOT y col. (26) en 1950. En ese mismo año, son publicadas dos notas más, dando cuenta de infecciones experimentales en animales de laboratorio (27), y de la primera inoculación en voluntario humano (28). Casos semejantes fueron señalados

también en otras regiones de Colombia: Puerto Wilches, San Faustino, Restrepo. El tripanosoma en cuestión es un flagelado delgado, de más o menos 31 μ . de largo, de cuerpo ondulado y membrana desarrollada, extremidades finas y pequeño blefaroplasto redondo situado algo alejado de la extremidad posterior. Fueron encontradas formas en división en sangre periférica, que según los autores son escasas en hombre y más frecuentes en ratón infectado experimentalmente. En los exámenes histopatológicos realizados a animales, no fueron observadas leishmanias.

Los autores logran comidas infectantes con *R. prolixus*, y describen las formas encontradas después en el insecto. Cultivan también el parásito con buen éxito en medio sólido de Geiman, y dan a conocer, prolijamente, las formas presentes en los cultivos.

Los resultados de las inoculaciones efectuadas por los autores colombianos, están resumidos en el Cuadro 3 (los detalles pueden verse en las publicaciones citadas).

CUADRO III

Resultados de las inoculaciones efectuadas por los AA. colombianos

ANIMAL INOCULADO	Edad	Material inoculado	Resultado	Métodos de diagnóstico
ratón blanco	recién nacidos	sangre humana	negativo	directos
ratón blanco	recién nacidos	heces <i>Rhodnius</i>	"	directos
<i>Macaca mullata</i>	—	"	"	directos y cultivo
ratón blanco	más de 6 días	cultivo	"	directos
ratón blanco (esplenectomizado)	—	"	"	directos
cobayo	—	"	"	directos y cultivo
Mono (<i>Saimiri sciureus</i>)	—	"	"	directos
Mono (<i>Aotus trivirgatus</i>)	—	"	"	directos
ratón blanco	menos de 6 días	"	positivo	directos
<i>Didelphis p. paraguayensis</i>	jóven	"	"	cultivo
<i>Macaca mullata</i>	—	"	"	cultivo
hombre	adulto	"	"	cultivo

(*) En estos últimos 3 casos no fue posible demostrar infección por métodos directos

La casuística de GROOT y col, abarcó 183 personas de la región mencionada, y en 67 de ellas fué posible demostrar tripanosomas. De esos casos, 27 fueron estudiados parasitológicamente, resultando que, en 26 de ellos se identificó *T. ariarii* puro y en un único caso había infección mixta con *S. cruzi*. En la misma zona fueron encontrados en varias oportunidades *R. prolixus* con in-

fección natural por formas de tripanosomas largas y finas, que fueron interpretadas por los autores como siendo del propio *T. ariarii*. También se encontró allí mismo, un perro y un mono domesticado (*Cebus fatuellus*) infectados naturalmente. Llama poderosamente la atención el hecho de que el mono que había sido capturado tiempo atrás en la selva vecina, vivía ahora en una casa en donde varias personas estaban infectadas.

De las inoculaciones efectuadas en voluntarios humanos, vale la pena subrayar que no fue observada ninguna manifestación clínica en los infectados, que mostraron siempre aparente buena salud. En uno de ellos el primer cultivo positivo se obtuvo a los 13 meses, y en el otro se logró a los 105 días, después de las inoculaciones, y en este último, los parásitos se demostraron hasta los 200 días. Es decir, la parasitemia se caracterizó por escaso número de tripanosomas circulantes, aparecimiento tardío de los mismos y persistencia de las formas en la circulación por tiempo prolongado.

Debemos decir desde ahora, que morfológicamente éste tripanosoma coincide tanto en el vertebrado como en el invertebrado con lo que hoy conocemos para el *T. rangeli*. Los autores al referirse a este último tripanosoma descrito de casos humanos de Guatemala, Venezuela y en la misma Colombia, aceptan que sean una especie "muy relacionada" con la de ellos pero que no lo identifican con él por la escases de datos existentes. Para probar tal aseveración, dan un cuadro que resume los conocimientos aportados hasta ese momento por los autores que han contribuido al estudio del *T. rangeli*, el cual trata de demostrar esas diferencias entre este tripanosoma y lo que ellos prefirieron llamar *T. ariarii*. A nuestro modo de ver, y como indicamos más adelante, el *T. ariarii* es el mismo *T. rangeli* para cuyos conocimientos habrán contribuido ahora notablemente GROOT y col, en Colombia¹. Es verdad como los autores mismos lo dicen, que las inoculaciones a animales a partir de heces de insectos infectados en forma natural, hasta ese momento no habían tenido buen éxito, por motivos no bien determinados, pero también es verdad que se habían aislado por xenodiagnóstico de casos humanos, formas correspondientes a las de TEJERA y que a pesar de provenir de un vertebrado conocido, no se lograba infectar con ellas los animales de experimentación. Por otra parte, el mismo GROOT y col. que consiguieron infectar experimentalmente *R. prolixus* con *T. ariarii*, en ese entonces, tampoco tuvieron buen éxito en las inoculaciones a partir de material de insectos. Es decir, la misma dificultad también fue encontrada por ellos.

GROOT y col. consideraron pues, que era necesario dar un nuevo nombre al flagelado por ellos hallado debido a que no había datos suficientes que demostraran que el tripanosoma de TEJERA, correspondía a la forma humana de PIFANO, de DE LEÓN, y de H. DE PAREDES & PAREDES, ya que no se podían sacar conclusiones, por sólo la semejanza en los invertebrados, de la identidad

¹ Muy recientemente ha llegado a nuestras manos un nuevo trabajo de GROOT relatando un estudio comparativo entre el *T. ariarii* y el *T. rangeli* (cepas de Guatemala, de Venezuela y de Colombia) que lo llevó a la conclusión de que se trata del mismo protozoario. El trabajo en cuestión, que recibimos cuando el nuestro estaba para ser publicado, apareció en los *An. Soc. Biol. Bogotá* 6(3):109-126, con fecha de febrero de 1954 pero al parecer la revista fue editada y distribuida algún tiempo después.

de los tripanosomas. Ahora bien, conociendo los trabajos de DE LEÓN que dan fotografías de las formas sanguíneas humanas, y de las formas de los insectos encontradas en Guatemala, GROOT y col. no discuten, a pesar de que esas formas no tienen diferencias morfológicas con las de ellos, la posibilidad de que los casos de DE LEÓN fueran causados también por el *T. ariarii*. Las diferencias existentes hasta ese momento, encuentran pues explicación en una serie de factores inherentes a los métodos y condiciones de trabajo, y entre los cuales son fundamentales, el tipo y calidad del material empleado en las inoculaciones. los animales usados, medios utilizados para poner en evidencia la infección de los mismos, tiempo usado en las observaciones etc. Debemos tomar en cuenta además, las variaciones en la capacidad infectante, que pueden ocurrir en una misma especie de tripanosoma.

En 1951, GROOT (24), verifica la existencia de la misma tripanosomiasis en una nueva región de Colombia: fracción Mirador, Municipio de Nilo, Departamento de Cundinamarca, al encontrar un caso humano y dos perros infectados por un tripanosoma que identifica como *T. ariarii*. Las formas que autor considera correspondientes, también fueron halladas en los *Rhodnius* del lugar.

En otra nota, GROOT & URIBE (31), dan a conocer los resultados de inoculaciones practicadas a perros a partir de material proveniente de insectos infectados que, como ya vimos, hasta aquel momento no se habían logrado con resultados positivos. Los autores infectan 2 perros jóvenes con *T. ariarii* a partir de material del contenido cefálico de los *Rhodnius*. La infección se puso en evidencia por cultivos y a partir de los mismos se reproducen las formas sanguíneas en rata recién nacida. De esta rata infectaron algunos *R. prolixus* limpios. Por otro lado en otros 2 perros inoculados con contenido intestinal de los insectos, se obtuvo cultivo positivo por *T. ariarii* de uno de ellos (posteriormente también apareció el *S. cruzi*). Del otro perro se obtuvo un cultivo al parecer mixto. Tenemos así, la primera demostración del ciclo completo de este tripanosoma que parasita al hombre. Ahora bien la presencia de formas infectantes en la cabeza del insecto, está insinuando la existencia de un ciclo anterior para este tripanosoma, a diferencia del *S. cruzi* y de todos los tripanosomas del grupo "lewisi", lo cual no implica que no pueda haber además infección contaminativa como ocurre normalmente con el flagelado de Chagas, tal y como ha quedado demostrado experimentalmente por los autores colombianos. Terminan diciendo que se sienten autorizados definitivamente para considerar al *R. prolixus* como transmisor natural del *T. ariarii*.

En un trabajo más amplio, GROOT (25) insiste una vez más en sus principales hallazgos experimentales con el tripanosoma de Colombia. El autor observó que la invasión de la hemolinfa de insectos natural o artificialmente infectados por el flagelado, se daba con mucha constancia y subsecuente a ella el tripanosoma aparecía en las glándulas salivares. Infectando insectos de primer estadio y en estado de ninfa, pudo comprobar en una de sus experiencias, que era necesario que transcurrieran entre 4 a 17 días, una vez alcanzado el estado adulto, para que fueran notados los flagelados en la hemolinfa.

En otros casos este asunto no se pudo determinar con precisión. Posteriormente era necesario también un período de tiempo que varió de 3 hasta 10 o más días para que las formas se instalaran en las glándulas salivares.

•Haciendo picar ratas jóvenes por *R. prolixus* infectados, se notó que si éstos tenían menos de 6 días de contener tripanosomas en la hemolinfa, no le transmitían a través de su picada. Por otro lado la transmisión en esa forma fue fácil con insectos de infección hemolinfática de más de 10 días. Además, en dos insectos infectados en primer estadio larval, se comprobó infección hemolinfática después de alcanzar el estado de ninfa: en uno, sacrificado, se encontró también infección de las glándulas salivares y el otro fue capaz de transmitir el *T. ariarii* por picada en rata.

Los datos apuntados acentúan una vez más la existencia de una evolución anterior del flagelado en el invertebrado transmisor, necesiándose primero determinado espacio de tiempo para que el protozoo invada la hemolinfa del insecto y otro intervalo más, para que las formas aparezcan en las glándulas salivares, para así el hemotófago quedar en condiciones de transmitir el tripanosoma en el acto de la picada. Podemos agregar aquí, que siendo el ciclo biológico del *R. prolixus* relativamente rápido, el papel más importante en la transmisión por método "inoculativo" estaría a cargo de las formas adultas.

GROOT y col. (30) en un comentario sobre la nomenclatura del *T. rangeli* exponen una vez más las razones que los llevaron a considerar como nueva especie al *T. ariarii* hallado en Colombia. No entraremos a analizar en detalle el artículo, ya que no se encuentra ningún argumento nuevo en él y una vez más podemos apreciar que los datos presentados llevan siempre a establecer más una analogía que una diferencia entre los tripanosomas en cuestión.

UCROS & GERLIN en Colombia (57), realizando la técnica de fijación del complemento con antígeno de *S. cruzi*, reportan resultados negativos para tres sueros usados, de personas que habían presentado cultivos positivos para *T. ariarii*. Debemos decir que, los estudios inmunológicos en ese sentido precisan ser ampliados para llegar a cualquier conclusión definitiva.

EL *T. LEWISI* INFECTA AL HOMBRE?

En 1933, JOHNSON (34) reporta el hallazgo de tripanosomas morfológicamente idénticos al *T. lewisi* en un niño malayo, muy debilitado y de escasos meses que vivía en una casa con abundancia de ratas. Por 5 días los tripanosomas fueron numerosos en la sangre del paciente, para después desaparecer junto con la temperatura que el niño presentaba. El autor que es parco en su relato, expresa que el protozoo fue reconocido por los Profesores Thomson y Wenyon a quienes envió láminas del caso y los cuales lo identificaron como *T. lewisi*. Por último manifiesta simplemente, que se inocularon ratas y cobayos con sangre del paciente con resultados negativos.

Todo conduce a pensar que realmente se trató de un caso accidental de parasitismo humano por *T. lewisi*. Para explicar tal aberración hoy día sabemos por ejemplo, que la dieta vitamínica en el huésped, tiene una gran importancia en la infección por ciertos tripanosomas. Así BECKER y col. de acuerdo con VON BRAND (3) demostraron que la deficiencia de pantotenato en ratas, producía infecciones más intensas con *T. lewisi* y ya fue demostrado también que palomas con dieta exenta de complejo B, pueden adquirir infección por *T. brucei* para el cual, como se sabe, son normalmente refractarias. En otras palabras, se ha demostrado experimentalmente la importancia que tiene el estado nutricional de un determinado animal para la infección con tripanosomas que naturalmente tienen como huéspedes otros animales, guardando para ellos una especificidad bastante grande. La edad del animal es otro factor digno de tomarse en cuenta ya que conocemos la facilidad con que se infectan ratas jóvenes con *T. lewisi*, por ejemplo, en contraposición a la dificultad de lograr lo mismo en ejemplares viejos. Quizás en esto encuentre explicación la falla de las inoculaciones efectuadas por JOHNSON.

Con base en el caso anterior, podría pensarse en la posibilidad de que algunos triatóminos domiciliarios pudieran transmitir accidentalmente el *T. lewisi* al hombre y que quizás tal tripanosoma haya logrado adaptarse al *Rhodnius prolixus* y tenga alguna relación con lo que hoy conocemos como *T. rangeli* en América. Este triatómino como es sabido es de gran eclecticismo alimentario y se presenta a veces en cantidades alarmantes en los países en que precisamente se han registrado los casos de tripanosomiasis *rangeli* y en donde sin duda alguna son abundantes las ratas, huéspedes naturales del *T. lewisi*, en los domicilios. DIAS & SEABRA (10) citan varias especies de triatóminos (*T. infestans*, *T. protracta*, *T. rubrofasciata*) en los cuales, varios autores, no lograron infección experimental por *T. lewisi*. Nosotros mismos en experiencias realizadas con *R. prolixus* que se alimentaron repetidas ocasiones en ratas altamente infectadas por el tripanosoma, no conseguimos tal adaptación. Practicando disecciones en intervalos variados, se comprobó que bastaban 24 horas, en algunos casos, para que los tripanosomas se observaran en el contenido estomacal de los *Rhodnius* completamente paralizados.

Creemos pues que la infección humana por *T. lewisi*, debe considerarse como una cosa excepcional, para la cual posiblemente contribuirían una serie de factores de difícil asociación natural.

NUEVOS DATOS SOBRES EL *T. RANGELI*

Recientemente COUTINHO & NUSSENZWEIG (4) inocularon en la cavidad general de varias especies de "barbeiros" (estado ninfal), cultivo de *T. rangeli* de procedencia venezolana. En las especies *T. vitticeps*, *T. infestans*, y *R. prolixus*, se constató en todos los ejemplares inoculados, infección hemolinfática mientras que en los ejemplares de *P. megistus* tal cosa no ocurrió. En las heces de los insectos así infectados no se encontraron flagelados, ni tampoco en la

saliva de los que se examinaron. En la hemolinfa, dicen los autores, se encuentran formas libres de critidias y tripanosomas, predominando las primeras; también ocurren formas intracelulares redondeadas que interpretan como critidias arrolladas por mostrar una "formación flagelar" alrededor de las mismas. Las células que las poseen son consideradas como de naturaleza fagocitaria y en las cuales pueden evolucionar los parásitos.

Por xenodiagnóstico artificial, se alimentaron ejemplares de triatóminos de las mismas especies mencionadas lográndose infección de todas ellas. La hemolinfa no presentó flagelados aunque el tubo digestivo presentara abundantes formas.

Los autores obtienen infección experimental en ratas recién nacidas y en perros de un mes de edad, a partir de heces de esos insectos demostrando el flagelado en sangre periférica.

Por último los autores sugieren inocular "material sospechoso" de contener *T. rangeli* en la cavidad general de triatóminos ya que a pesar de que el *S. cruzi* también es capaz de desarrollarse allí, la diferenciación ulterior se torna más fácil.

Realmente el trabajo de los autores brasileños además de tener el interés de demostrar que con facilidad el *T. rangeli* infecta otros triatóminos que tal vez pueden servir de sus vectores naturales en países en que no existe o está limitado a ciertas zonas el *R. prolixus* (en caso de que el reservorio natural si exista) tiene una importancia mayor, que ni los mismos autores vieron (no se señala ni en el resumen), y el hecho de que por la primera vez se obtienen inoculaciones positivas a animales de laboratorio a partir de heces de insectos conteniendo *T. rangeli* "típicos" (cepa procedente de Venezuela cedida por el Dr. Pifano), lo cual ya sería un argumento de peso para clamar por la identidad de este tripanosoma y el *T. arivari* de GROOT y col. Los autores no hicieron tampoco xenodiagnósticos en los animales inoculados con lo cual el trabajo hubiera quedado más completo.

Hasta mayo de 1952, PIFANO, según cita PESSÔA, (44) había verificado en Venezuela 238 casos humanos de tripanosomiasis rangeli de los cuales 38 presentaron concomitantemente el *S. cruzi*. Además refiere 13 perros parasitados por *T. rangeli*, 4 de los cuales con asociación con *S. cruzi*. Las determinaciones se hicieron en su mayoría por xenodiagnóstico.

UN TRIPANOSOMA MAS QUE EVOLUCIONA EN TRIATOMINOS: *T. DIASI*

En 1952, DEANE & MARTINS (6) encuentran un mono (*Cebus apella apella*) de la región Amazónica del Brasil, parasitado por escasas formas de un tripanosoma que fue capaz de evolucionar en triatóminos. Se trata de un tripanosoma de 43 μ . de largo, relativamente ancho, de extremidades algo afiladas, blefaroplasto pequeño, alargado y marginal, alejado de la extremidad posterior y membrana bien desarrollada. Lo consideran como una nueva especie que deno-

minan *T. diasi*. Un número considerable de insectos de las especies *P. megistus*, *T. infestans*, y *R. prolixus*, se alimentaron en el mono, infectándose ejemplares de las tres especies. Fuera del tubo digestivo no fue posible demostrar los flagelados en ninguna otra región de los insectos. Los autores describen todas las formas por ellos encontradas en el contenido intestinal de los triatóminos. Logran cultivar el tripanosoma a partir de sangre del mono en medios corrientes usados para tal propósito. A partir de sangre del mono y de material de insectos, inoculan ratones (adultos y recién nacidos), cobayos, perro (recién nacido) y monos del género *Cebus* (2 adultos y uno joven) con resultados negativos en todos los casos.

Los autores comparan su tripanosoma con algunos otros conocidos de vertebrados, distinguiéndolo de *T. rangeli*, el cual encuentran más estrecho y de blefaroplasto puntiforme. También establecen diferencias con el *T. cebus* que es menor que el *T. diasi* y con comportamiento biológico diferente.

Realmente el tripanosoma de los autores brasileños en su forma sanguínea y según las descripciones y diseños, parece tener características suficientes que lo individualizan del *T. rangeli*. El hallazgo es de interés porque demuestra un nuevo tripanosoma de mono, capaz de evolucionar en insectos triatóminos.

UN PROBLEMA DE NOMENCLATURA

Recientemente, E. DIAS (9) lanzó la hipótesis de que el *T. escomeli* y el *T. rangeli* sean la misma cosa, en cuyo caso el primer nombre tendría prioridad sobre el segundo. En efecto, ESCOMEL (12) encontró en Perú en 1919, por la primera vez, un tripanosoma en la sangre de un paciente de 40 años, cuya descripción el autor da, acompañada de una figura a cámara clara. El mismo trabajo original es publicado en castellano al año siguiente (13), con la misma figura reproducida en colores lo que permite apreciar mejor el aspecto de los tripanosomas encontrados por ESCOMEL. Por las características morfológicas entre las que sobresale el pequeño blefaroplasto, y por sus dimensiones (20 a 40 μ .), YORKE (60) consideró al parásito como siendo diferente del *S. cruzi* y lo denominó *T. escomeli* (recordar que el caso de ESCOMEL siempre se ha tenido como el primer caso de enfermedad de Chagas del Perú y que *T. escomeli* figura hoy día entre la sinonimia del *S. cruzi*).

Nosotros compartimos la opinión de YORKE pues realmente ni la descripción, ni los diseños de aquel autor concuerdan con la morfología típica del *S. cruzi*. Ahora bien, si llegamos a admitir que el *T. rangeli* y el *T. escomeli* son un mismo tripanosoma que se puede encontrar parasitando al hombre en algunos países de nuestro continente, tendríamos que dar prioridad al *T. escomeli* pasando el *T. rangeli* a ser su sinónimo. (el *T. escomeli* Yorke fue descrito en marzo y el *T. rangeli* Tejera en julio del año 1920).

DATOS EXPERIMENTALES

INOCULACIONES CON *T. ARIARII*

Tuvimos oportunidad de inocular ratas y ratones jóvenes con cultivos ricos de *T. ariarii* (*T. rangeli* cepa *ariarii*) de procedencia colombiana y mantenido en medio de Noguchi. En primer lugar, se inocularon 3 ratas de tres días de nacidas y 6 ratones de seis días de edad por vía intraperitoneal. El cultivo usado, de un mes y una semana, tenía numerosos repiques anteriores en el laboratorio (subcultivos). Algunos de los animales se examinaron diariamente a partir del siguiente día de la inoculación y otros en días alternados, por observación a fresco de sangre de la cola. Todos los animales fueron negativos por tripanosomas. En otra oportunidad se inoculan 5 ratones y 4 ratas todos de tres días de nacidos, con cultivo de un mes. En uno de los ratones se observó al 5º día de la inoculación un único tripanosoma a fresco en solamente una de las varias preparaciones hechas. Por otro lado en una de las 4 ratas fue posible demostrar un tripanosoma en las mismas condiciones anteriores, 7 días después de la inoculación. Una tercera tentativa se hizo posteriormente en ratones de cuatro días de nacidos sin lograr demostrar infección en ninguno de ellos. Tanto el ratón como la rata en que se demostró la "infección" no presentaron en los días subsiguientes ninguna anomalía, ni nos fue posible hallar más flagelados en los exámenes practicados posteriormente.

Los datos anteriores difieren de los encontrados por GROOT y col., en que nuestra cepa se comportó aparentemente como menos virulenta que las formas de cultivo por ellos empleadas. Es decir, mientras los autores colombianos infectan con relativa facilidad ratones y ratas recién nacidos (principalmente de menos de seis días), nosotros sólo conseguimos una infección fugaz (si es que se puede hablar de infección) en un ejemplar de cada uno de esos animales de laboratorio. Atribuimos esa mayor dificultad principalmente a la edad de los cultivos que como ya quedó dicho contaban con numerosos repiques en el laboratorio con fines de conservación lo cual además, es una cosa conocida en este grupo de tripanosomas fácilmente cultivables, como acontece por ejemplo con el propio *T. lewisi*.

ALGUNAS EXPERIENCIAS CON EL *T. RANGELI*

Como ya tuvimos oportunidad de mencionarlo al principio de estas líneas, se nos presentó recientemente la oportunidad de trabajar con una cepa de *T. rangeli* de procedencia venezolana con la cual realizamos algunas experiencias que relataremos y discutiremos en estos párrafos finales.

Varios lotes de *R. prolixus* (ninfas) fueron inoculados con cultivo en la cavidad general. A las observaciones de COUTINHO & NUSSENZWEIG (4) ya relatadas, podemos agregar las siguientes. A las 48 horas, después de la inoculación, es posible observar la predominancia de formas gruesas en división que con pequeño aumento presentan un aspecto en V bastante característico (fig. 1). Tres días después ya es posible encontrar una cantidad grande de flagelados, con predominio casi absoluto de critidias largas y finas que también son las más abundantes en todo el curso de la infección (Fig. 2). Unos 8 a 10 días después de la inoculación se comienza a notar una disminución en el número de flagelados cuyos movimientos se han hecho más lentos. Al cabo de unas tres semanas los protozoarios son más escasos y se notan algunas formas en aparente estado degenerativo. En esas condiciones, un repasto sanguíneo por parte de los *Rhodnius* no modifica el curso de la infección en relación a ejemplares testigos no alimentados. Aproximadamente mes y medio después, los flagelados son sumamente escasos y a veces no aparecen en una simple gota de hemolinfa. Los tiempos que damos aquí están influenciados principalmente por la riqueza del inóculo, lo que debe tomarse en cuenta.

Es interesante hacer notar que la infección se acompaña de un aumento concomitante y paralelo en el número de células con predominio de fagocitos (apreciación cualitativa).

Como notaron COUTINHO & NUSSENZWEIG (4), es posible encontrar flagelados, además de libres en la hemolinfa, dentro de células fagocitarias con el aspecto de critidias arrolladas. Efectivamente comprobamos el hallazgo pero al contrario de los autores mencionados, creemos que se trata de critidias endocelulares condenadas a sufrir el proceso digestivo de las células fagocitarias y no de formas que llevarán a cabo ulterior multiplicación dentro de las mismas (Fig. 1). En efecto, algunas de esas formas se hallan en vías de desintegración y con el avance de la infección los fagocitos se van cargando de restos nucleares, parte de los cuales, por lo menos, deben corresponder a los flagelados.

Todo lleva a creer que el tripanosoma se comporta en la hemolinfa como en un medio de cultivo, presentando las mismas fases de crecimiento que presenta en el tubo de ensayos. La fagocitosis que sería el principal medio de defensa del insecto no altera o altera muy poco el curso del desarrollo del protozoario, dada la intensidad de su multiplicación.

De los *Rhodnius* inoculados cuyas glándulas salivares fueron disecadas tenemos los siguientes resultados. De 2 adultos con un mes de infección hemolinfática, presentando pocos parásitos en ese momento, las glándulas fueron negativas. En un adulto con dos meses de infección hemolinfática sin parásitos aparentemente en la hemolinfa las glándulas también estaban negativas. En un adulto con dos meses de infección y con muy escasos parásitos en la hemolinfa, en el momento de la experiencia, se encontró una masa de flagelados, unos enredados en los otros, en una glándula salivar, sin que podamos precisar el local. En 2 adultos con dos meses de infección hemolinfática y con hemolinfa ahora aparentemente negativa, también se encontraron sendas masas de flagelados en una de sus respectivas glándulas. En uno de estos insectos esas formas se en-

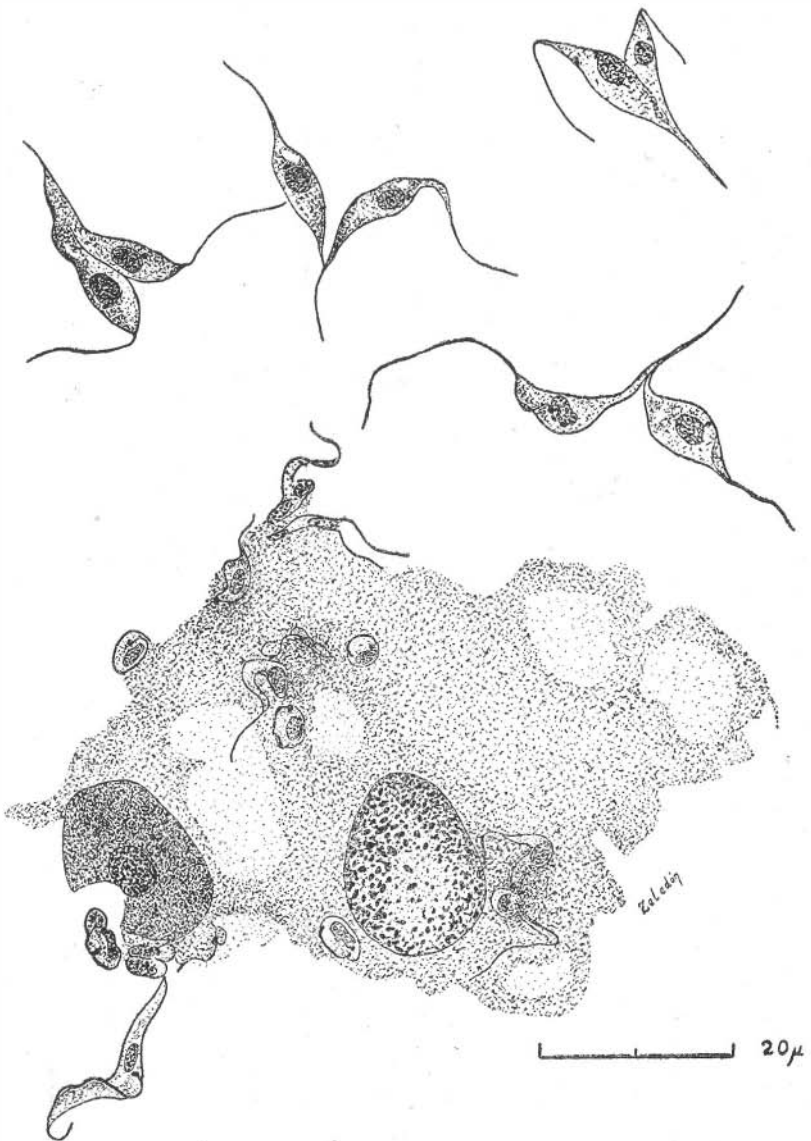


Fig. 1: En la parte superior se ven formas características de *T. rangeli* en división, a las 48 horas de infección hemolinfática en *R. prolixus*. Abajo, puede apreciarse una gran célula fagocitaria con flagelados en su interior. Del lado izquierdo de esa célula puede apreciarse otro hemocito de tipo micronucleocito (6 días de infección hemolinfática).



Fig. 2: Formas predominantes de *T. rangeli* en la hemofinfa de *R. prolixus* seis días después de la inoculación. Notar el aspecto flageliforme que a veces presenta la extremidad posterior del protozoario.

contraban en la porción bulbosa situada cerca de la salida de la glándula. En el otro no se pudo precisar el local y los flagelados sólo fueron vistos después de reventar la glándula bajo la presión del cubreobjetos. El aspecto de esas formas, que fueron relativamente escasas, era el de critidias largas, principalmente, algunas en activa reproducción. Dos *Rhodnius* más fueron disecados tres meses y una semana después de la inoculación hemolinfática. La hemolinfa, después de un curso de infección normal se había presentado negativa aproximadamente mes y medio después de la inyección de tripanosomas. En el momento de la disección ambos insectos presentaban nuevamente bastantes flagelados en aquel líquido. En uno de ellos no se encontró parásitos en las glándulas pero si llamó nuestra atención la cantidad de "rosetas" o formas de reproducción en las regiones adyacentes a las mismas (conductos salivares?) y en la región cefálica. En el último *Rhodnius*, la única glándula que fue posible aislar mostró, al reventarla enorme cantidad de flagelados en su contenido.

La disección de los insectos fue hecha manteniéndolos dentro de solución salina, en una placa de petri con fondo de parafina, y una vez obtenidas las glándulas eran lavadas en la misma solución y observadas al microscopio primero enteras y después entre lámina y laminilla.

No cabe duda pues, de que hay una tendencia marcada por parte de los flagelados a invadir las glándulas salivares a partir de la infección hemolinfática, al parecer asegurándose su subsistencia en aquel local. Todo indica además que una vez alcanzadas las glándulas se produce una activa multiplicación del protozooario *in situ*, con un aumento gradual de su número en relación directa al tiempo de infección. A partir de esas formas glandulares, que van a cerrar el ciclo anterior del protozooario, puede darse una segunda invasión de la hemolinfa, que posiblemente se mantiene por el resto de la vida del insecto.

Al respecto queremos mencionar un interesante trabajo de WIGGLESWORTH (59) referente al metabolismo de la hemoglobina en varios insectos hematófagos. Trabajando entre los *Triatominae* con *Triatoma infestans*, *T. brasiliensis* *Eutriatoma sordida* y *Rhodnius prolixus*, encontró una diferencia fundamental para estas especies: sólo en el *R. prolixus* se almacena en las glándulas salivares, protohematina combinada, en la forma de pigmento semejante a hemalbúmina. Nosotros relacionamos este hecho con la tendencia del *T. rangeli* de evolucionar en condiciones óptimas en las glándulas del *R. prolixus* después de que los trabajos de LWOFF (39), MC RARY y col. (41) y otros, han demostrado la necesidad de hemoglobina o más bien de su grupo prostético (hematina), como factor de crecimiento, en el desarrollo de tripanosómidos sanguícolas, en particular del *S. cruzi*.

Por último, inoculamos los siguientes animales, con material de cultivo algunos, y con hemolinfa de insectos otros, sin haber podido demostrar en ninguno de ellos la infección tripanosómica, ni por exámenes directos ni por xenodiagnósticos en los casos en que se empleó este último método:

Ratones: dos lotes recién nacidos, unos inoculados con hemolinfa y otros con cultivo en medio de Nöller por vía intraperitoneal. Fueron hechos repetidos exámenes a fresco.

Monos: 2 *Cebus fatuellus* adultos. Uno de ellos inoculado con cultivo en medio de Nöller vía subcutánea; diez días después se le practica un xenodiagnóstico y muere ese mismo día accidentalmente. El segundo *Cebus* se inocula con cultivo en medio de Noguchi. Se practicaron exámenes a fresco y dos xenodiagnósticos, el primero un mes después de la inoculación y el segundo aproximadamente tres meses después.

Perros: 2 perritas de más o menos 20 días. A la primera, inoculada con cultivo en medio de Noguchi por vía intraperitoneal, se le practicaron repetidos exámenes directos y dos xenodiagnósticos, uno 12 días después de inoculada y el otro un mes después del primero. La otra perrita fue inoculada con hemolinfa y además de los exámenes a fresco, se le hizo un xenodiagnóstico un mes después.

Cobayos: 2 ejemplares de más o menos un mes de edad inoculados: uno con hemolinfa por vía subcutánea y el otro con cultivo en medio de Noguchi vía peritoneal. Se hicieron exámenes directos y xenodiagnósticos mes y medio después de la inoculación.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

El autor hace una revisión cronológica completa de la literatura sobre el *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920 y la nueva tripanosomiasis neotropical, dividiéndola convenientemente en capítulos para una mejor comprensión y exposición del asunto.

Son hechos además los comentarios y las críticas que a juicio del autor cada trabajo sugiere, tratándose de poner orden en los conocimientos actuales sobre el tema, aportados principalmente por los investigadores de Venezuela, Guatemala y Colombia, países en donde se han reportado los casos humanos.

En cuanto a los tripanosomas semejantes en varios aspectos al *T. rangeli* y aislados de algunos animales en la Guayana Francesa, se llama la atención para el *T. cebus* Floch & Abonnenc, 1949, que realmente no presenta diferencias fundamentales con aquel tripanosoma humano, a pesar de que su estudio fue incompleto, por lo que podría considerarse su sinónimo. Además, se lanza la hipótesis de que el huésped vertebrado natural del *T. rangeli* sea un mono americano.

Referente al flagelado encontrado una vez en Chile en insectos triatóminos, no puede considerarse por ahora como *T. rangeli*, y en opinión del autor el caso humano reportado en la Argentina no debe tomarse en cuenta puesto que no fue debidamente documentado, dejando dudas de interpretación.

El asunto del *T. ariarii* Groot, Renjifo & Uribe, 1951, es abordado ampliamente demostrándose que no han existido razones de peso para considerarlo como nueva especie y las diferencias que los autores pretendían encontrar eran enteramente aparentes.

Como ya señalamos, recientemente el mismo GROOT ha llegado a la conclusión de que *T. rangeli* y *T. ariarii* son una misma cosa, al descubrir un ciclo anterior para el primero, ahora confirmado por nosotros.

También se llama la atención sobre la incapacidad del *T. lewisi*, que ya fue encontrado una vez parasitando al hombre, de evolucionar en el intestino de *Rhodnius prolixus*, alejándose así la hipótesis de cualquier semejanza con el *T. rangeli*.

De la literatura se desprende que el *T. rangeli* por el momento, no se muestra patógeno para el hombre y que los casos humanos se caracterizan por una persistencia del tripanosoma en la circulación y en número muy escaso.

En la segunda parte del trabajo, son presentados algunos datos experimentales obtenidos con la cepa "ariarii" de Groot y col. y con el *T. rangeli* de origen venezolano.

Con la muestra "ariarii" se inocularon ratas y ratones recién nacidos y solamente en uno de cada uno de esos animales se descubrió infección por examen a fresco sugiriéndose una pérdida de virulencia del tripanosoma por su conservación "in vitro".

Con el *T. rangeli* de Venezuela fueron realizadas varias experiencias. Son inoculados *R. prolixus* en la cavidad general y se observa la evolución del flagelado en diversos períodos, sugiriéndose que el protozooario se comporta en forma semejante a como lo hace en los cultivos artificiales. Las formas de criticidias encontradas dentro de los fagocitos de la hemolinfa no son consideradas como viables.

Al hacer la disección de los insectos inoculados, tiempo después de haberse establecido la infección, se pudo demostrar la ulterior reproducción que el protozooario lleva a cabo en las glándulas salivares de los mismos, tal y como había sido demostrado primero por GROOT y col. con la muestra "ariarii" en Colombia. Se piensa que a partir de esas formas glandulares se siguen dando nuevas infecciones hemolinfáticas. Basado en un trabajo de WIGGLESWORTH, el autor encuentra una estrecha relación entre el pigmento hematinico almacenado en las glándulas salivares del *R. prolixus* y la evolución del *T. rangeli* en aquel lugar.

Por último son inoculados varios animales (ratones, ratas, monos *Cebus*, perros y cobayos) con hemolinfa de insectos y con cultivos de *T. rangeli* sin lograr demostrar infección ni por examen a fresco (ratones y ratas) y ni por este método y xenodiagnóstico (monos, perros, cobayos) en ninguno de ellos. Se demuestra así una vez más las dificultades que se tienen para obtener la forma sanguínea de este tripanosoma. Como factores fundamentales en el caso de los cultivos y que contribuyen al fracaso de las inoculaciones, pueden mencionarse la edad de los mismos (número de repiques) y el medio usado, además de los inherentes a la biología y fisiología de algunos *Trypanosomida*.

SUMMARY

A complete chronological review is presented of the literature on *Trypanosoma rangeli* Tejera 1920 and on the new neotropical trypanosomiasis. Critical

notes are made, evaluating the contributions of the several investigators in Venezuela, Colombia, and Guatemala, where the human cases have been reported.

Regarding trypanosomes similar in certain aspects to *T. rangeli* and isolated from some animals in French Guiana, *T. cebus* Floch and Abonnenc is noted as presenting in fact no fundamental differences with *T. rangeli*, notwithstanding that its study was incomplete, for which reason it is considered a synonym of the latter species. The hypothesis is offered that the natural vertebrate host of *T. rangeli* is an American monkey.

As to the flagellate reported once from Chile in triatomine insects, it can not be held to be *T. rangeli*; and the human case reported from Argentina, in the author's opinion, should not be taken in consideration because it was not properly documented, leaving doubts in its interpretation.

The matter of *T. ariarii* Groot, Renjifo and Uribe 1951 is discussed in detail, concluding that there is not enough evidence to consider it a separate species, and that the differences reported by the authors were merely apparent — a conclusion arrived at by GROOT himself in a later publication.

Stress is laid on the inability of *T. lewisi*, which has been reported once in man, to evolve in the intestine of *Rhodnius prolixus*, thus eliminating the hypothesis of its identity with *T. rangeli*.

T. rangeli appears, from the literature, to be non pathogenic on man; human cases are characterised by the persistence and small number of the trypanosomes in the blood stream.

Experimental data are presented, obtained with Groot's "*ariarii*" strain and with Venezuelan *T. rangeli*. New-born rats and mice were inoculated with "*ariarii*" stock; only one of each showed infection in fresh material. A loss of virulence of the trypanosome is suggested, due to its cultivation *in vitro*.

Several experiments were carried out with the Venezuelan *T. rangeli*. Some specimens of *R. prolixus* were inoculated in the general cavity, and the evolution of the flagellate was observed in several stages, the protozoan appearing to behave as in artificial culture media. Crithidial forms found within the phagocytes of the hemolymph are not considered viable.

Further reproduction of the protozoan was observed in the salivary glands of inoculated insects dissected some time after infection had become established, as GROOT *et al.* had succeeded in showing for the "*ariarii*" strain in Colombia.

New hemolymphatic infections are thought to follow from these glandular forms. Following Wigglesworth's opinion, the writer finds a close relationship between the hematinic pigment stored in the salivary glands of *R. prolixus* and the evolution of *T. rangeli* in them.

Lastly, mice, rats, *Cebus* monkeys, dogs, and guinea pigs were inoculated with insect hemolymph and with cultures of *T. rangeli*. No infection was demonstrated either by examination of fresh material (mice and rats) or by that method and xenodiagnosis (monkeys, dogs, guinea pigs) in any of the test animals.

Once again the difficulty is evidenced of obtaining blood forms of this trypanosome. The age of the cultures (the number of transfers) and the medium.

used are listed as fundamental factors contributing to failure of the inoculations, besides those inherent to the biology and physiology of certain Trypanosomidae

BIBLIOGRAFIA

1. BORZONE, R. A., P. R. LAPIEZA-CABRAL & M. AIZEMBERG
1949. Primera observación argentina de *Trypanosoma rangeli* (Tejera). (Nota previa). *Sem. méd. (B. Aires)* 56(34):348-349. (Cit. in 2).
2. BORZONE, R. A., P. LAPIEZA-CABRAL, J. M. A. DE TOLEDO & M. AIZEMBERG
1950. Una nueva tripanosomiasis americana en la Argentina. Hallazgo de *Trypanosoma rangeli* (Tejera, 1920) en hombre y perro. *Sem. méd. (B. Aires)* 57(23):993-998.
3. BRAND, T. VON
1952. *Chemical physiology of endoparasitic animals*. X + 339 pp. Academic Press Inc., Publishers, New York.
4. COUTINHO, J. O. & V. NUSSENZWEIG
1952. Infecção experimental de triatomíneos pelo *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920. *Folia clin. biol.*, 18(3):181-188.
5. CHAGAS, C.
1909. Nova tripanozomíaze humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp. agente etiológico de nova entidade morbida do homem. *Mem. Inst. Osw. Cruz*, 1(2):159-218.
6. DEANE, L. M. & R. MARTINS
1952. Sobre un tripanosoma encontrado en macaco da Amazonia e que evolui em triatomídeos. *Rev. brasil. malar. D. Trop.* 4(1):47-61.
7. DIAS, EMMANUEL
1934. *Trypanosoma cruzi* ou *Schizotrypanum cruzi*? *Mem. Inst. Osw. Cruz*, 29(1):203-215.
8. DIAS, EMMANUEL
1939. O genero *Schizotrypanum* Chagas, 1909. *Mem. Inst. Osw. Cruz*, 34(2):193-211.
9. DIAS, EMMANUEL
1952. Doença de Chagas nas Américas. V. Equador e Peru. *Rev. brasil. Malar. D. Trop.*, 4(4):319-325.
10. DIAS, E. & C. A. CAMPOS-SEABRA
1943. Sobre o *Trypanosoma conorhini*, hemoparasito do rato transmitido pelo *Triatomina rubrofasciata*. Presença do vector infectado na cidade do Rio de Janeiro. *Mem. Inst. Osw. Cruz*, 39(3):301-330.

11. DIAS, E. & J. F. TORREALBA
1943. Verificação de flagelados semelhantes ao *Trypanosoma rangeli* Tejera, em *Rhodnius prolixus* alimentados em caso de doença de Chagas na Venezuela. *Mem. Inst. Osw. Cruz*, 39(3):265-278.
12. ESCOMEL, E.
1919. La trypanosomiase humaine existe dans les forêts orientales du Pérou. *Bull. Soc. Path. exot.* 12(10):723-726
13. ESCOMEL, E.
1920. Comprobación clínica y microscópica de la existencia en el Perú de la tripanosomiasis americana. *An. Fac. Med. Lima*, 5:14-17.
14. FLOCH, H.
1941. Sur un nouveau Trypanosome de *Ateles paniscus* en Guyane Française. *Inst. Past. Guy. Terr. L'Inini*, Public. N° 9,4 pp.
15. FLOCH, H., P. DE LAJUDIE & E. ABONNENC
1941. Un Trypanosome d'un édenté (*Myrmecophaga tridactyla*) susceptible d'évoluer dans le tube digestif de *Rhodnius prolixus*. *Inst. Past. Guy. Terr. L'Inini*, Public. N. 25, 6 pp.
16. FLOCH, H. & E. ABONNENC
1942. Trypanosomes évoluant dans le tube digestif de *R. prolixus*. *Inst. Past. Guy Terr. L'Inini*, Public. N° 54, 2 pp.
17. FLOCH, H. & E. ABONNENC
1948. Trypanosome de *D. marsupialis* dont les formes métacycliques chez *R. prolixus* et *T. rubrofasciata* ressemblent à celles de *T. myrmecophagæ*. *Inst. Past. Guy. Terr. L'Inini*, Public. N° 171, 6 pp.
18. FLOCH, H. & E. ABONNENC
1949. Sur un trypanosome et un schizotrypanosome de singe évoluant chez les triatomidés et inoculable aux animaux de laboratoire; leur rapports avec *T. rangeli* Tejera. 1920 *Inst. Past. Guy. Terr. L'Inini*, Public. N° 189, 12 pp.
19. FLOCH, H. & E. ABONNENC
1949. Trypanosomes de mammifères sylvestres autres que *S. cruzi* en Guyane Française. *Inst. Past. Guy. Terr. L'Inini*. Public. N° 193, 14 pp.
20. FLOCH, H. & E. ABONNENC
1949. Sur la nouvelle trypanosomiase américaine. *Inst. Past. Guy. Terr. L'Inini*, Public. N° 194. 6 pp.
21. FLOCH, H. & E. ABONNENC
1949. Sur un trypanosomide de singe infectant naturellement la cavité générale de *Triatoma rubrofasciata* et celle de *Rhodnius prolixus*. *Inst. Past. Guy. Terr. L'Inini*, Public. N° 201, 8 pp.
22. GAJARDO-TOBAR, R. & E. THIERMANN
1950. Comprobación de la existencia de un nuevo Trypanosoma en el país. *Bol. Inf. parasit. chilenas*, 5(2):23-25.

23. GAMINARA, A.
1923. Estudio experimental sobre *S. cruzi* y enfermedad de Chagas en el Uruguay. *An. Fac. Med. Montevideo*, 8(3-4):311-359.
24. GROOT, H.
1951. Nuevo foco de Trypanosomiasis humana en Colombia. *An. Soc. Biol. Bogotá*, 4(6):220-221.
25. GROOT, H.
1952. Further observations on *Trypanosoma ariarii* of Colombia, South America. *Amer. Jour. trop. Med. & Hyg.*, 1(4):585-592.
26. GROOT, H., S. RENJIFO & C. URIBE
1950. Contribución al estudio de tripanosomas humanos y de animales en Colombia. II Nota preliminar sobre un tripanosoma humano del Valle del Río Ariari, Intendencia Nacional del Meta. *Rev. Hig. Bogotá*, 24:13(Cit. in 29).
27. GROOT, H., S. RENJIFO & C. URIBE
1950. Nuevos datos sobre *Trypanosoma ariarii*. *An. Soc. Biol. Bogotá*, 4(3):81-84.
28. GROOT, H., S. RENJIFO & C. URIBE
1950. Nota preliminar sobre la inoculación a un voluntario humano con *Trypanosoma sp. (ariarii)*. *An. Soc. Biol. Bogotá*, 4(3):99-103.
29. GROOT, H., S. RENJIFO & C. URIBE
1951. *Trypanosoma ariarii* n. sp. from man found in Colombia. *Amer. Jour. trop. Med.* 31(6):673-691.
30. GROOT, H., S. RENJIFO & C. URIBE
1951. Algunas consideraciones sobre el llamado *Trypanosoma rangeli*. *An. Soc. Biol. Bogotá*, 4(6):225-230.
31. GROOT, H. & C. URIBE
1951. Nota preliminar sobre transmisión experimental de *Trypanosoma ariarii*. *An. Soc. Biol. Bogotá*, 4(6):221-225.
32. HERNÁNDEZ DE PAREDES, C. & M. R. PAREDES
1949. Un caso de infección humana por *T. rangeli*. *Rev. Fac. Med. Bogotá*, 18(4):343-375.
33. HOARE, C. A. & F. COUTELEN
1933. Essai de classification des trypanosomes des mammifères et de l'homme basée sur leurs caractères morphologiques et biologiques. *Ann. Parasit. hum. comp.* 2(3):196-200.
34. JOHNSON, P. D.
1933. A case of infection by *Trypanosoma lewisi* in a child. *Trans. rol. Soc. trop. Med. Hyg.* 26(5):467-468.
35. LEÓN, J. R. DE
1942. Nota preliminar acerca de la Enfermedad de Chagas en Guatemala. *Rev. Cruz Roja Guatemalteca*, 9(5) (Cit. in 42 y 43).

36. LEÓN, J. R. DE
1946. *Contribución al estudio de la Enfermedad de Chagas en Guatemala*. Trab. presentado al I Congreso Inter. Med. Rio de Janeiro, Poligrafiado 10 pp.
37. LEÓN, J. R. DE
1949. El *Trypanosoma rangeli* observado en seres humanos en Guatemala. *Public. Inst. Inv. Cient.* N°3, 35 pp.
38. LEÓN, J. R. DE
1950. Un nuevo foco de tripanosomiasis humana por el *Trypanosoma rangeli* descubierto en Guatemala. *Public. Inst. Inv. Cient.* N°4, 19 pp.
39. LWOFF, M.
1931. La nature de la substance du sang indispensable aux Trypanosomides. *C. R. Soc. Biol.* 107:1234-1236.
40. MAYER, M.
1950. Human trypanosomiasis of the neotropical region produced by *Trypanosoma rangeli* Tejera. *5º Congreso Int. Microbiol.* Río de Janeiro, p. 145-146.
41. McRARY, W L., E. R. NOBLE & E. L. TONDEVOLD
1952. Blood factors in the nutrition of *Trypanosoma cruzi*. *Science* 115(2985):288
42. MONTENEGRO, M. L.
1943. *Contribución al estudio de la tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas en Guatemala*. Tesis. Facultad Ciencias Médicas, Universidad Nacional. Guatemala. 74 pp.
43. PEÑALVER, L. M., J. FAJARDO & F. J. AGUILAR
1953. Aportes al conocimiento de la enfermedad de Chagas en Guatemala. *Rev. Col. Med. (Guatemala)*, 4(1):20-35.
44. PESSÔA, S. B.
1954. *Parasitologia Medica*. 4 ed., 1026 pp. Livraria Editora Guanabara, Ed., Rio de Janeiro.
45. PIFANO, F.
1941. La enfermedad de Chagas en el Estado Yaracuy, Venezuela. *Gac. méd. Caracas*. 48(4):209-216.
46. PIFANO, F., M. MAYER, R. MEDINA & H. BENAÍM-PINTO
1948. Primera comprobación de *Trypanosoma rangeli* en el organismo humano por cultivo de sangre periférica. *Arch. venez. Patol. trop.* 1(1):1-31.
47. PIFANO, F., L. M. PEÑALVER, R. MEDINA & E. DOMÍNGUEZ
1948. La infección natural del perro por el *Trypanosoma rangeli*. Primera comprobación de un reservorio vertebrado extra-humano del protozooario de la naturaleza. *Gac. méd. Caracas*, 56(7-12):5pp.(separata).

48. PIFANO, F. & M. MAYER
1949. Hallazgo de formas evolutivas del *Trypanosoma rangeli* en el jugo de la trompa de *Rhodnius prolixus* de Venezuela. *Arch. Venez. Pat. trop.* 1(2):153-158.
49. PIFANO, F., M. MAYER, M. RÖMER, E. DOMÍNGUEZ, R. MEDINA & E. B. PINTO
1949. Estado actual de las investigaciones en Venezuela sobre una nueva tripanosomiasis humana de la región neotrópica producida por el *Trypanosoma rangeli*. *Arch. venez. Patol. trop.* 1(2):135-152.
50. RENGIFO, S., H. GROOT & C. URIBE
1950. Contribución al estudio de Trypanosomas humanos y de animales en Colombia. II Trypanosomas humanos. *Rev. Hig. Bogotá*, 24:3(Cit. in. 29).
51. REY-MATIZ, H. & H. UCRÓS-GUZMÁN
1939. Nota preliminar sobre el hallazgo del *Schizotrypanum cruzi* y del *Trypanosoma rangeli* en *Rhodnius prolixus* en algunas regiones del Oriente de Cundinamarca, *Rev. Fac. Med. Bogotá*, 8(2):76-78.
52. REY-MATIZ, H.
1941. Observaciones sobre Trypanosomas en Colombia. *Rev. Fac. Méd. Bogotá*, 10(1):25-49.
53. TEJERA, E.
1920. Un nouveau flagellé de *Rhodnius prolixus*. *Trypanosoma* (ou *Critibidia*) *Rangeli* n. sp., *Bull. Path. exot.* 13:527-530.
54. TORREALBA, J. F.
1951. Una pequeña nota sobre el primer caso agudo de tripanosomiasis rangeli comprobado en Venezuela. In *Investigaciones sobre Enfermedad de Chagas en Zaraza* (Estado Guárico, Venezuela). Otras notas científicas. Recopilación, Fascículo III., pgs. 92-100.
55. TORREALBA, J. F.
1951. Otra pequeña nota sobre las tripanosomiasis en San Juan de los Morros Estado Guárico, Venezuela. In *Investigaciones sobre Enfermedad de Chagas en Zaraza* (Estado Guárico, Venezuela). Otras notas científicas. Recopilación. Fascículo III., pgs. 101-109.
56. TORREALBA, J. F., F. PIFANO & M. RÖMER
1951. Investigaciones sobre enfermedad de Chagas y Trypanosomiasis rangeli en el Distrito Roscio, Estado Guárico, Venezuela. In *Investigaciones sobre Enfermedad de Chagas en Zaraza* (Estado Guárico, Venezuela). Otras notas científicas. Recopilación. Fascículo III, pgs. 111-125.
57. UCRÓS H. & C. GERLEIN
1953. Desviación del complemento en la Trypanosomiasis americana (Técnica de Kelsner). *An. Soc. Biol. Bogotá*, 5.(6):245-254.

58. URIBE-PIEDRAHITA, C.

1929. Infección del *Rhodnius prolixus* Stal, por *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma rangeli*. *Edit. Minerva, Bogotá*, 7 pp. (Cit. in 30).

59. WIGGLESWORTH, V. B.

1943. The fate of haemoglobin in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera) and other blood-sucking arthropods. *Proc. roy. Soc. B.*, 131(865):313-339.

60. YORKE, W.

1920. On human trypanosomiasis in Peru. *Ann. trop. Med. Parasit.* 13(4):459-460.

61. ZELEDÓN, R.

1952. *El problema de la tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas en Costa Rica*. Tesis. 109 pp., Ministerio de Salubridad Pública. Investigaciones epidemiológicas N° 2.