

Estudios sobre hematozoarios XI. Infecciones experimentales con *Plasmodium vivax**

por

Rodolfo Pérez-Reyes**

(Recibido para su publicación el 11 de diciembre de 1961)

Diferentes autores, especialmente norteamericanos, han estudiado ampliamente el comportamiento de varias cepas de *Plasmodium vivax* y han demostrado que existen por lo menos dos tipos principales en cuanto a longitud del período latente: las cepas de "recidivas a corto plazo" y las de "recidivas a largo plazo". Las primeras dominan en zonas donde la transmisión se efectúa a lo largo de todo el año, mientras que las segundas predominan en lugares donde la transmisión es estacional.

A pesar de la importancia que tiene el conocimiento de estos aspectos en relación con la epidemiología del paludismo, poco o nada se sabe del comportamiento de las cepas mexicanas de *P. vivax*.

BELTRÁN (1) y BELTRÁN y AGUIRRE PEQUEÑO (2) realizaron una serie de estudios con *P. vivax*, *P. malariae* y *P. falciparum* en neurosifilíticos. Desgraciadamente practicaron sus inoculaciones mediante la inyección de sangre infectada, de manera que no obtuvieron datos sobre las recidivas.

Nosotros hemos tenido la oportunidad de disponer de un insectario adecuado y de estudiar enfermos asilados en el Manicomio General, algunos de ellos por un tiempo suficientemente largo para determinar el período de latencia.

MATERIAL Y METODOS

Los individuos inoculados fueron exclusivamente enfermos mentales asilados en el Manicomio General, que requerían tratamiento por piritoterapia. Todos fueron mestizos, con edades que oscilaron entre 20 y 62 años. En cada caso se registró el lugar de procedencia y cuando fue posible se obtuvieron datos sobre permanencia en zonas donde el paludismo es endémico y sobre ataques

* Trabajo costado por la Comisión Nacional para la Erradicación del Paludismo.

** Departamento de Parasitología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México D. F.

previos del padecimiento. Para nuestros propósitos, consideramos con antecedentes de paludismo a todas aquellas personas que padecieron la enfermedad, o que residieron en zonas endémicas.

La cepa de *P. vivax* que utilizamos en estas pruebas fue aislada por nosotros de un individuo que adquirió la enfermedad en Martínez de la Torre, Veracruz, población situada cerca de la costa del Golfo de México. Con sangre de este individuo se inocularon tres enfermos mentales y a partir de ellos, la cepa se mantuvo principalmente por inoculaciones con esporozoítos, y solamente de una manera ocasional, por inoculación con sangre.

En un principio, las inoculaciones con esporozoítos se realizaron mediante picaduras repetidas de 2 a 4 hembras de *Anopheles quadrimaculatus* fuertemente parasitadas, cosa que se comprobó por disección posterior de los insectos. Este procedimiento resultó poco práctico debido a que las múltiples manipulaciones afectan la supervivencia y la actividad de los mosquitos; por tanto, después de unas cuantas pruebas, decidimos realizar las inoculaciones mediante la inyección subcutánea de 2 a 6 glándulas parasitadas, suspendidas en una mezcla de una parte de suero humano y dos de solución salina fisiológica.

Las inoculaciones con parásitos hemáticos se realizaron mediante la inyección endovenosa o intramuscular de 5 a 10 ml de sangre infectada conteniendo entre 1 y 30 millones de células parasitadas.

La vigilancia se inició, en el caso de individuos inoculados con sangre, a los dos días de la infección, y en el caso de los inoculados con esporozoítos, a los 9 días. Al principio se examinaron gotas gruesas, hasta la aparición de las primeras formas hemáticas, y después se efectuaron cuentas diarias, de acuerdo con la técnica de EARLE y PÉREZ (7), hasta la desaparición de las mismas.

Cuando desaparecieron los parásitos de la sangre periférica, ya sea por tratamiento o por recuperación espontánea, la vigilancia se continuó mediante el examen de una gota gruesa semanal, tomada siempre el mismo día de la semana. En caso de una nueva invasión hemática, se repitió la cuenta diaria.

Todas las muestras se tiñeron con el colorante de Giemsa y fueron observadas con objetivo de inmersión a 540 diámetros de aumento. Antes de anotar una muestra como negativa, se examinó la gota gruesa durante 6 minutos.

RESULTADOS

Se inocularon 82 individuos, 16 con trofozoítos y 66 con esporozoítos. De ellos 79 desarrollaron infección sanguínea y tres no, a pesar de que se inocularon cada uno en tres ocasiones, empleando suspensiones de esporozoítos que fueron infectivas para individuos inoculados simultáneamente.

En los inoculados con sangre, el período prepatente varió entre 3 y 11 días (promedio 6). En los inoculados con esporozoítos el período prepatente varió entre 10 y 18 días (promedio 13,2), excluyendo a un individuo con incubación larga (seis meses) después de haber sido picado por dos mosquitos infectados.

En general las personas susceptibles muestran en los primeros días de infección, fiebre cotidiana; en cambio los semi-inmunes y los casos de recidiva,

dieron normalmente infección sincrónica, con fiebre terciana.

Para los propósitos de este estudio, la observación de la parasitemia sanguínea se ha limitado a los primeros 15 días, ya que por causas diversas, muchos enfermos fueron tratados al final de este período.

De acuerdo con la evolución del padecimiento y los antecedentes individuales, hemos formado cuatro grupos con las personas inoculadas:

- 1) Susceptibles y sin antecedentes de paludismo.
- 2) Sin antecedentes de paludismo pero con inmunidad fuerte.
- 3) Con antecedentes de paludismo e inmunidad fuerte.
- 4) Con antecedentes de paludismo e inmunidad limitada.

A continuación anotamos la evolución de la parasitemia en cada uno de los cuatro grupos mencionados, tanto entre los inoculados con esporozoítos (gráfica 1), como entre los inoculados con sangre (gráfica 2).

INOCULADOS CON ESPOROZOÍTOS. El total de 66 individuos inoculados con esporozoítos se divide de la manera siguiente:

GRUPO 1. 40 personas fueron susceptibles y no dieron antecedentes de paludismo. En ellos la parasitemia se elevó rápidamente. Al quinto día la media geométrica era de 6.115 parásitos por mm^3 , y tres días más tarde se alcanzó la cúspide, con una media geométrica de 13.843 parásitos por mm^3 , para bajar después lentamente y al final del período de estudio, la media geométrica fue de 8.978 parásitos por mm^3 (gráfica 1).

GRUPO 2. Ocho individuos sin antecedentes de paludismo y originarios de lugares que se consideran libres de la enfermedad, incluyendo a tres que siempre han radicado en la Ciudad de México, mostraron inmunidad en grado comparable a la observada entre los individuos del grupo 3. La media geométrica se elevó al principio con rapidez, llegando a 5.103 parásitos por mm^3 al quinto día, pero en los días subsecuentes apenas sufrió un ligero incremento, de manera que en la cúspide (séptimo día) el promedio fue de solamente 6.479 parásitos por mm^3 y a continuación descendió de una manera continua, con excepción de una ligera alza observada el día 12, para llegar prácticamente a cero al final del estudio (gráfica 1).

GRUPO 3. En los individuos procedentes de zonas palúdicas o con antecedentes de la enfermedad, la curva de parasitemia es semejante a la que acabamos de describir.

Desde luego, para los promedios se tomaron en cuenta únicamente las personas que desarrollaron parasitemia, eliminándose a los tres que fueron refractarios.

La media geométrica en este grupo, se elevó rápidamente hasta el cuarto día, con una magnitud comparable a la observada entre los susceptibles, pero al quinto día era solamente la mitad de la encontrada en el grupo 1. El máximo se alcanza al sexto día de infección sanguínea, con una media de 5.191 parásitos por mm^3 , o sea menos de la mitad del máximo alcanzado en los susceptibles (gráfica 1). A continuación la curva descendió casi con la misma velocidad con que se elevó, llegando prácticamente a cero a los 12 días. Al final del período de estudio, solamente un individuo mostraba muy escasos parásitos, mientras que los

ocho restantes eran negativos al exámen microscópico.

GRUPO 4. Incluye a seis individuos con antecedentes de paludismo, pero con inmunidad reducida. Dos de ellos dijeron haber padecido la enfermedad en su infancia, mientras que los cuatro restantes habían sido inoculados con anterioridad, uno de ellos en el Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales de esta ciudad, sin que se conozcan los datos referentes a cepa empleada y duración de la infección, y los tres restantes fueron inoculados por nosotros con la misma cepa; uno mediante sangre, seis meses antes, con una parasitemia de 24 días que fue interrumpida por tratamiento supresivo; los dos últimos fueron inoculados con esporozoítos y desarrollaron parasitemias de 19 y 21 días de duración, que también fueron interrumpidas por tratamiento.

Estos seis individuos mostraron infecciones sanguíneas bajas. La media geométrica alcanzó su máximo al sétimo día con una cuenta de 5.115 parásitos por mm^3 , comparable a la observada en los inmunes típicos, y aunque en seguida se redujo a 1.506, mostró un nuevo ascenso hasta 3.652; al final del período de observación la media era muy baja (318 parásitos por mm^3), pero en ningún caso desapareció espontáneamente en el período de estudio.

INOCULADOS CON TROFOZOÍTOS. Entre los 16 inoculados con sangre, solamente pudimos distinguir dos grupos, que corresponden al 1 y al 3 de los inoculados con esporozoítos.

GRUPO 1. Doce personas sin antecedentes de paludismo, fueron completamente susceptibles a la enfermedad. En ellos, al igual que observamos entre los inoculados con esporozoítos, la parasitemia se elevó para alcanzar su cúspide al sexto día del período patente, con una media geométrica de 13.157 parásitos por mm^3 ; después descendió ligeramente y el día 12 se observó una nueva elevación, algo mayor que la anterior, que debe atribuirse a que en esa fecha se descartaron 5 personas que fueron tratadas, y de las 7 restantes, dos mostraban parasitemias altas (34.490 y 27.270), por lo cual la media geométrica se elevó anormalmente.

GRUPO 3. Cuatro individuos con antecedentes de paludismo eliminaron los parásitos de su sangre en un máximo de 12 días. La cúspide de la curva (gráfica 2) fue de solamente 1.844 parásitos por mm^3 y las formas hemáticas desaparecieron al exámen microscópico, entre el 8º y el 12º días.

La inmunidad natural parece relativamente baja entre los individuos que participaron en la prueba; 60 de ellos proceden de zonas no palúdicas y no indicaron antecedentes de la enfermedad. Al ser inoculados con esporozoítos o con sangre parasitada, 52 (86,3%) fueron susceptibles y desarrollaron parasitemias que, en su punto más alto, generalmente fueron mayores de 10.000 parásitos por mm^3 y siempre mayores de 3.000 parásitos por mm^3 . En ellos, a partir del cuarto día de parasitemia sanguínea, las cuentas fueron siempre mayores a 1.500 parásitos por mm^3 .

Los ocho restantes (13,3%) presentaron infecciones transitorias; cuatro mostraban parásitos al final de 15 días, mientras que los restantes eran negativos.

No se elimina la posibilidad de que alguno de estos individuos, hubiera padecido paludismo en alguna época sin guardar recuerdo, ya sea por la edad

a que lo padecieron o por su estado mental actual.

En cambio la inmunidad adquirida es considerable, pues de 22 personas procedentes de lugares palúdicos o con antecedentes de la enfermedad, 16 (72,7%) mostraron inmunidad fuerte, que se tradujo en infecciones transitorias que terminaron espontáneamente en el transcurso de los 15 días de observación, e inclusive, tres de estos individuos (13,6%) fueron completamente refractarios a tres inoculaciones con esporozoítos.

Otros seis mostraron infecciones intermedias, con tendencia a la desaparición espontánea, aunque se mantuvieron activas durante todo el período de observación.

En general, los individuos que hemos catalogado dentro del grupo 1 muestran una tendencia a desarrollar infecciones con parasitemias más altas que en los tres grupos restantes, como puede observarse en las gráficas 1 y 2 y en el cuadro 1; sin embargo, hay grandes variaciones individuales dentro de cada grupo.

El período de latencia entre el ataque inicial y la primera recidiva, fue de 23 a 37 semanas (cuadro 2), con un promedio de 196,0 días \pm 3,77, en 15 casos observados. Tres casos que mostraron segunda recidiva la desarrollaron entre 8 y 9 semanas después del tratamiento de la primera. En un solo caso de tercera recidiva, ésta apareció a las 4 semanas del tratamiento de la segunda.

CUADRO 1

Parasitemias máximas en individuos inoculados experimentalmente con *Plasmodium vivax*.

Inoculados con	Grupo*	Núm. de Individuos	PARASITEMIA MAXIMA		
			desde	hasta	promedio
Esporozoítos	1	40	2.975	126.690	26.796
	2	8	3.686	17.205	12.059
	3	9	620	19.390	9.318
	4	6	3.640	19.053	11.087
Sangre	1	12	6.860	43.050	22.406
	3	4	400	12.225	5.765

* Grupo 1. Susceptibles y sin antecedentes de paludismo.

Grupo 2. Sin antecedentes de paludismo pero con inmunidad fuerte.

Grupo 3. Con antecedentes de paludismo e inmunidad fuerte.

Grupo 4. Con antecedentes de paludismo e inmunidad limitada.

CUADRO 2

Período de latencia en la cepa "Veracruzana", comparado con los de las cepas Sta. Elizabeth y Coreana de *Plasmodium vivax*.

Cepa	Núm. de casos	PERIODO DE LATENCIA variación	PERIODO DE LATENCIA	
			promedio	error stand.
St. Elizabeth	79	137 a 327 días	275,6 días	\pm 4,04
"Veracruzana"	15	161 a 259 días	196,0 días	\pm 3,77
Coreana	137	39 a 247 días	68,6 días	

DISCUSSION

Se ha escrito mucho sobre la inmunidad adquirida en el paludismo. En general se considera como no esterilizante, reducida a la cepa homóloga del parásito (BOYD, 4, 5; GOODWIN, 9; RUSSELL, 11; SERGENT, 12; SERGENT y SERGENT, 13; YOUNT y GOGGESHALL, 14) y que desaparece con relativa facilidad (SERGENT y SERGENT, 13; YOUNT y GOGGESHALL, 14).

Entre las personas que estudiamos, el cuadro parece ser diferente. En primer lugar proceden de lugares situados en partes opuestas de la República, tales como Nayarit y Guerrero en la costa del Pacífico y Tamaulipas en la costa del Golfo de México. Los individuos que resultaron refractarios a la enfermedad procedían, uno de Sinaloa, en la costa noroeste, otro de Michoacán, en la parte central del país, y el tercero de Chiapas, el Estado más meridional. La cepa que empleamos en las inoculaciones procedía, como ya indicamos, de Veracruz, Estado costero del Golfo de México. Por tanto, si como suponen algunos autores, la inmunidad se restringe a la cepa homóloga, tendríamos que aceptar que en todo el país existe la misma cepa de *P. vivax*, cosa que nos parece muy poco probable, dadas las diferencias climáticas y de transmisión que se encuentran en las diversas zonas. BELTRÁN y VILLASANA (3) también encontraron inmunidad cruzada en dos cepas aisladas en Estados centrales de la República.

Es probable que el grado y amplitud de la inmunidad dependan, más que nada, del número de accesos previos, como ya lo han señalado algunos autores, y del tiempo que permanezcan los parásitos en la sangre. Tres individuos que inoculamos nosotros mismos con anterioridad, y a los cuales se les administró tratamiento supresivo, y otro más, inoculado en el Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, mostraron inmunidad reducida, lo que sugiere que la infección no tuvo la duración suficiente para provocar una inmunidad sólida.

En cambio en otro de nuestros pacientes, que fue inoculado con esporozoítos y desarrolló una infección moderada, con cuenta máxima de 16.534 parásitos por mm³, y en el cual la enfermedad se dejó evolucionar espontáneamente, el cuadro es completamente distinto. La infección sanguínea tuvo una duración de 59 días, después de lo cual desaparecieron los parásitos y no volvieron a aparecer en 58 semanas. Al cabo de este tiempo, el individuo fue inoculado nuevamente, ahora con 30.000.000 de células parasitadas por vía intramuscular; los parásitos se obtuvieron de un enfermo procedente de Playa Azul, Michoacán, en la costa del Pacífico. No mostró parásitos sanguíneos en 12 semanas de observación.

En algunos individuos, la inmunidad parece tener una persistencia considerable. Uno de los que resultaron refractarios a tres inoculaciones, indicó haber padecido la enfermedad en su infancia y reside permanentemente en la Ciudad de México, desde hace 20 años. Otro individuo, que mostró parasitemia transitoria con duración de 14 días, ha estado 13 años fuera de zonas palúdicas, habiendo vivido todo ese tiempo, en la misma Ciudad de México. El trabajo de YOUNT y GOGGESHALL (14), parece conducir a similares conclusiones, pues aún cuando en la discusión anotan (pág. 705): "This residual humoral immu-

nity, however, is rapidly lost". un poco antes (pág. 703) indican: "From the table 1 it may be concluded that we were unable to demonstrate any significant relation between host resistance and the interval between chemotherapeutic cure and reinfection".

La inmunidad se refiere exclusivamente a las formas eritrocíticas, como lo indicaron previamente varios autores y lo confirmaron GARNHAM y BRAY (8) por estudio histopatológico. El período prepatente entre los individuos con cierto grado de inmunidad (excluyendo a uno con incubación prolongada) es de 13,1 días en promedio, comparado con 13,3 que mostraron los individuos susceptibles.

El período de latencia es intermedio al observado en la cepa St. Elizabeth, aislada en Estados Unidos de Norteamérica y la cepa Corcana. El cuadro 2 muestra los datos respectivos, tomados de COATNEY y col., (6) y HANKEY y col. (10).

El período más largo de actividad parasitaria, fue de aproximadamente 11 meses, y se observó en un individuo que mostró tres recidivas. Fue inoculado el 24 de agosto de 1959 y los parásitos se hicieron visibles en su sangre 12 días más tarde; la tercera recidiva se hizo patente el 18 de julio de 1960.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos las facilidades brindadas para el desarrollo de este trabajo, a las Autoridades del Manicomio General y a los médicos del mismo, Dres. Dionisio Nieto, Santiago Castillejos, Regino del Pozo, José Chávez Almazán y Francisco Elizarrarás.

RESUMEN

Se inocularon 82 enfermos mentales con *Plasmodium vivax*. De ellos, 66 fueron infectados con esporozoítos obtenidos en *Anopheles quadrimaculatus* y 16 mediante sangre parasitada. Tres individuos fueron completamente refractarios a tres inoculaciones cada uno, con suspensiones de esporozoítos que resultaron infectivas para otros pacientes inoculados al mismo tiempo. Los 79 restantes desarrollaron infección sanguínea.

La cepa del parásito fue aislada por el autor a partir de un individuo con infección natural, que procedía de Martínez de la Torre, Veracruz, población relativamente cercana a la costa del Golfo de México.

El grado de inmunidad no depende del sitio de procedencia de los individuos. Personas procedentes de sitios opuestos del país, mostraron un grado de inmunidad similar.

La persistencia de la inmunidad puede ser considerable. Un individuo refractario a la infección tiene 20 años de residir en la Ciudad de México, donde no existe el padecimiento. Otro individuo con fuerte resistencia, ha vivido por 13 años en la misma Ciudad.

El período de latencia en 15 personas que mostraron recidiva, fue de 161 a 259 días (promedio 196,0 días). El período más largo de actividad parasitaria que se encontró fue de aproximadamente 11 meses.

SUMMARY

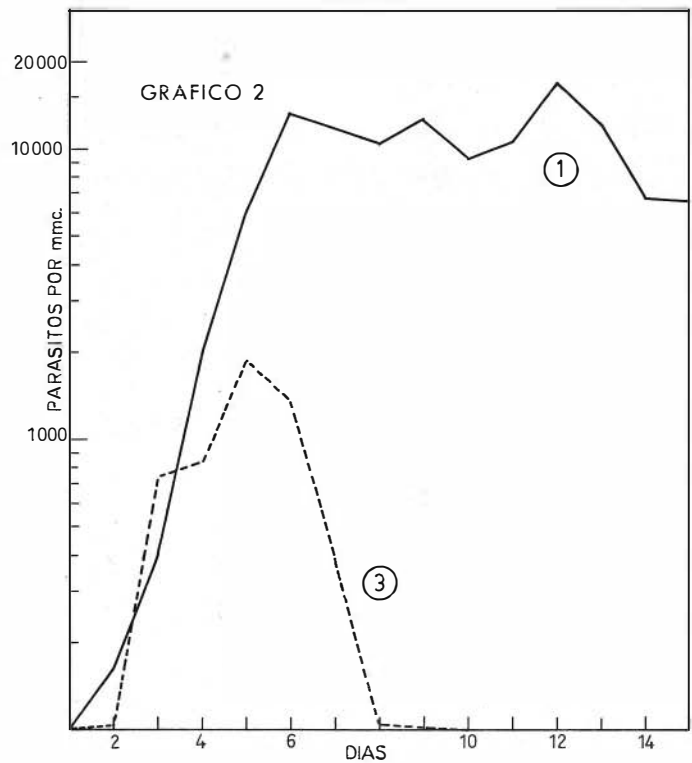
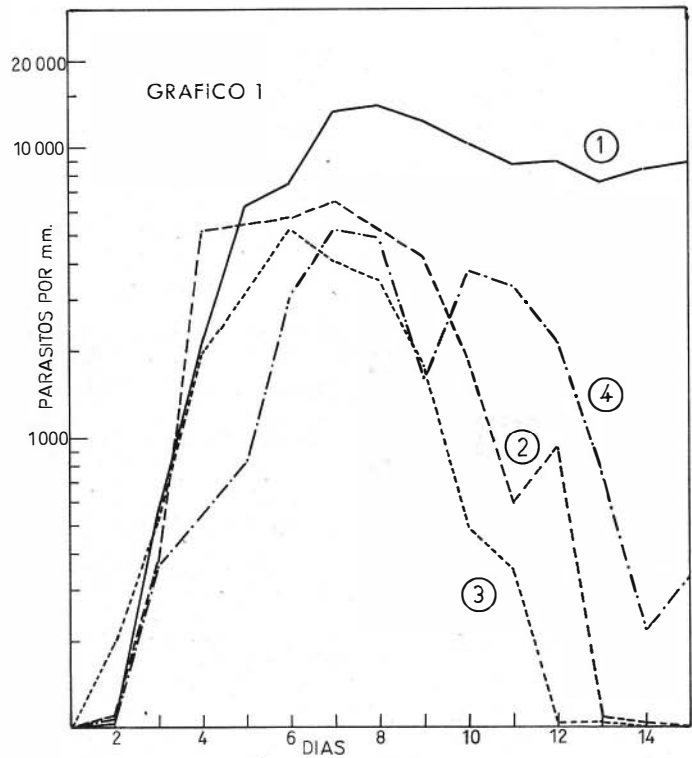
Eighty-two mental patients were inoculated with *Plasmodium vivax*. Sixty-six of them were infected with sporozoites obtained from *Anopheles quadrimaculatus* and 16 with parasitized blood. Three individuals were completely resistant to infection after three inoculations each, with suspensions of sporozoites which were infective on other patients inoculated simultaneously. The other 79 patients developed blood infection. The strain of *Plasmodium* was obtained by the author from a case of natural infection from Martínez de la Torre, Veracruz, near the Gulf coast.

The degree of immunity was independent of the geographical origin of the patients. Persons from widely separated points showed similar degrees of immunity. The persistence of immunity may be considerable. One immune individual has been a resident of Mexico City, where there is no malaria, for twenty years. Another patient showing considerable resistance to infection has lived in Mexico City for thirteen years. The period of latency in 15 patients showing relapse ranged from 161 to 259 days (mean, 196.0 days). The longest period of parasite activity observed was of approximately 11 months.

REFERENCIAS

1. BELTRÁN, E.
1948. Experiencias en trabajos de paludoterapia con *Plasmodium vivax*. *Gaz. Med. de México*, 78: 197-208.
2. BELTRÁN, E., & E. AGUIRRE PEQUEÑO
1948. *Lecciones de paludología* Inst. Invest. Cient. Univ. Nuevo León, Monterrey, México.
3. BELTRÁN, E., & L. VILLASANA V.
1945. Estudio experimental comparado de dos cepas mexicanas de *Plasmodium vivax*. *Rev. Inst. Salubr. Enf. Trop.*, México, 6: 103-108.
4. BOYD, M. F.
1947. A review of studies on immunity to *vivax* malaria. *J. Nat. Malar. Soc.*, 6: 12-31.
5. BOYD, M. F.
1949. Epidemiology of malaria: factors related to intermediate host. En *Malariaology*, M. F. Boyd ed. W. B. Saunders Co., Philadelphia & London.
6. COATNEY, G. R., W. C. COOPER, D. S. RUHE, M. D. YOUNG & R. W. BURGESS
1950. Studies in human malaria. XVIII. The life pattern of sporozoite-induced St. Elizabeth strain *vivax* malaria. *Amer. J. Hyg.*, 51: 200-215.
7. EARLE, W. C., y M. PÉREZ.
1932. Enumeration of parasites in the blood of malaria patients. *J. Lab. & Clin. Med.*, 17: 1124.
8. GARNHAM, P. C. C., & R. S. BRAY

1956. The influence of immunity upon the stages (including late exoerythrocytic schizonts) of mammalian parasites. *Rev. Brasil. Malariol.*, 8: 151-160.
9. GOODWIN, L. G.
1958. The chemotherapy of some protozoal infections. En *The strategy of chemotherapy* Cambridge Univ. Press.
10. HANKEY, D. D., R. JONES JR., G. R. COATNEY, A. S. ALVING, W. G. COKER, P. L. GARRISON & W. N. DONOVAN
1953. Korean *vivax* malaria. I. Natural history and response to chloroquine. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.*, 2: 958-969.
11. RUSSELL, P. F.
Paludismo. Prensa Médica Mexicana, México, D. F.
12. SERGENT, ED.
1955. La prémunition antipaludique et les acces de prémunis. *Arch. Inst Pasteur d'Algérie*, 33: 307-309.
13. SERGENT, ED., y ET. SERGENT.
1956. History of the concept of "relative immunity" or "premunition" correlated to latent infection. *Ind. J. Malariol.*, 10: 53-80.
14. YOUNT, E. H., y L. T. COGGESHALL.
1949. Status of immunity following cure of recurrent *vivax* malaria. *Amer. J. Trop. Med.*, 29: 701-705.



AGÜERO, A.—Ver Jiménez-Quirós, O., p. 107.	
BIAGI, F., C. E. BRICEÑO & BERTA MARTÍNEZ.—Diferencia entre <i>Cysticercus cellulosae</i> y <i>C. racemosus</i>	141
BRENES, R. R.—Catálogo de los helmintos parásitos de Costa Rica	67
BRICEÑO, C. E.—Ver. Biagi, F., p. 141.	
CABALLERO y C., E.—Situación taxonómica de las especies del género <i>Mebliisia</i> S. J. Johnston, 1913 (Trematoda, Digenea)	61
CABALLERO y C., E., L. FLORES-BARROETA & ESPERANZA HIDALGO.—Investigaciones sobre dermatitis esquistosómica en el Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. I. Descripción de una nueva forma de cercaria	17
CARVALHO, C. de.—Esboço mastofaunístico do territorio do Rio Branco	1
CARVALHO, C. de.—Sobre os hábitos alimentares de Phyllostomídeos (Mammalia, Chiroptera)	53
FAIRCHILD, G. B.—A preliminary checklist of the Tabanidae (Diptera) of Costa Rica	23
FLORES-BARROETA, L.—Ver Caballero y C., E., p. 17.	
FLORES-BARROETA, L., ESPERANZA HIDALGO & F. MONTERO-GEI.—Céstonos de vertebrados. VIII.	187
FUENTES, L. G.—Distribución de los grupos sanguíneos en indios guatusos de Costa Rica	131
HIDALGO, ESPERANZA.—Ver Caballero y C., E., p. 17.	
HIDALGO, ESPERANZA.—Ver Flores-Barroeta, L., p. 187.	
JIMÉNEZ-QUIRÓS, O., A. AGÜERO & R. SABORÍO.—Manifestaciones alérgicas en oftalmología. 2. Queratitis ulcerativa y glaucoma agudo recidivante por sensibilización parasitaria a <i>Ascaris lumbricoides</i> y <i>Entamoeba histolytica</i>	107
KLUGE, A. G.—Ver Savage, J., p. 39.	
LIZANO, CECILIA.—Ver Sáenz, C., p. 171.	
MARTÍNEZ, BERTA.—Ver Biagi, F., p. 141.	
MONTERO-GEI, F.—Ver Flores-Barroeta, L., p. 187.	
NASSAR, MARYSSIA.—Ver Sáenz, J. A., p. 233.	
ORTIZ, F.—Ver Ruiz, A., p. 215.	
PÉREZ-REYES, R.—Estudios sobre hematozoarios. XI. Infecciones experimentales con <i>Plasmodium vivax</i>	241
RUIZ, A.—Ciliados de vida libre de la Ciudad Universitaria, Costa Rica	209
RUIZ, A.—Contribución al estudio del género <i>Phytomonas</i> Donovan en Costa Rica. III <i>Phytomonas davidi</i> (Lafont, 1909) Donovan, 1909	227
RUIZ, A., & F. ORTIZ.—Eimerias de los bovinos de Costa Rica. II Incidencias en terneros	215
SABORÍO, R.—Ver Jiménez-Quirós, O., p. 107.	
SÁENZ, C., & CECILIA LIZANO.—A contribution to the study of hookworm disease in infants	171

SÁENZ, J. A. & MARYSSIA NASSAR.—Glicósidos de <i>Thevetia plumeriaefolia</i> Benth. I.	233
SAVAGE, J. M., & A. G. KLUGE.—Rediscovery of the strange Costa Rica toad, <i>Crepidius epioticus</i> Cope	39
TAMSITT, J. R., & D. VALDIVIESO.—Notas sobre actividades nocturnas y estados de reproducción de algunos Quirópteros de Costa Rica	219
VALDIVIESO, D.—Ver Tamsitt, J. R., p. 219.	
VARGAS, M.—Algunas observaciones sobre el efecto irritante del DDT en cepas de <i>A. (Nyssorhynchus) albimanus</i> y <i>A. (Anopheles) punctimacula</i> en Costa Rica	97
VARVAS, M.—Algunas observaciones sobre los hábitos de <i>Anopheles (N.) albimanus</i> y <i>Anopheles (A.) punctimacula</i> adultos en la localidad de Matapalo (Puntarenas) Costa Rica	153
WILLE, A.—Evolutionary trends in the ventral nerve cord of the stingless bees (Meliponini)	117