

## ESTUDO DE UMA CEPA PERUANA DE *TRYPANOSOMA RANGELI* II — OBSERVAÇÕES SOBRE A INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE *RHODNIUS ECUADORIENSIS*

César A. CUBA CUBA (1)

### RESUMO

O Autor apresenta os resultados do estudo do comportamento biológico do *T. rangeli* em *R. ecuadoriensis* infectados por via natural, estabelecendo os períodos aproximados de invasão hemolinfática, de glândulas salivares e transmissão por picada. Em dois lotes de 20 e 30 insetos que sugaram em cobaias experimentalmente infectadas a invasão da hemolinfa foi verificada entre o 27.º e 54.º dias decorridos da refeição infectante. O índice de infecção da hemolinfa foi de respectivamente 25% e 29,7%. Utilizando insetos que apresentaram hemolinfa positiva para *T. rangeli* foram realizadas tentativas de transmissão por picada em camundongos, com a finalidade de se estabelecer o período entre o aparecimento do flagelado na hemolinfa e a invasão das glândulas salivares. A transmissão foi obtida regularmente com triatomíneos que tinham mais de 10 dias de parasitismo hemolinfático. Todos os insetos ao serem dissecados mostraram suas glândulas salivares com abundantes tripomastigotas metacíclicos. Camundongos inoculados com formas de *T. rangeli* eliminadas espontaneamente nas fezes de *R. ecuadoriensis* não contraíram a infecção o que reforça a opinião de que a transmissão natural desse trypanosoma ao vertebrado faz-se apenas pela picada.

### INTRODUÇÃO

São relativamente escassos os trabalhos que estudam o comportamento biológico do *T. rangeli* em triatomíneos infectados por via natural, isto é, não por inoculação na hemocele mas sim por ingestão de flagelados em animais infectados. Esse tipo de estudo foi realizado somente, ao que parece, por GROOT<sup>12</sup>, PIFANO<sup>18</sup>, HERBIG-SANDREUTER<sup>13</sup>, GREWAL<sup>9</sup> e TOBIE<sup>20</sup> utilizando *Rhodnius prolixus* e diferentes cepas de *T. rangeli*. Mais recentemente, D'ALESSANDRO<sup>7</sup>, com a mesma metodologia de transmissão cíclica testa uma cepa colombiana de *T. rangeli* e outras cinco espécies de triatomíneos: *R. neglectus*, *Triatoma patagônica*, *T. protracta*, *T. infestans* e *T. rubrovaria*, além do *R. prolixus*.

Com a finalidade de caracterizar biologicamente a cepa peruana por nós isolada (CUBA & col.<sup>1</sup>) realizamos, no presente trabalho, os seguintes estudos:

- a) Estudo do comportamento biológico do *T. rangeli* em *R. ecuadoriensis* infectados por via natural; estabelecimento dos períodos aproximados de invasão hemolinfática e de glândulas salivares e transmissão por picada;
- b) Tentativas de transmissão experimental de *T. rangeli* através da inoculação, em camundongos, de fezes espontaneamente eliminadas por *R. ecuadoriensis*.

Trabalho realizado no Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Instituto Oswaldo Cruz, 30.000 Belo Horizonte, Brasil, C.P. 1743

(1) Professor Auxiliar do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Nacional de Trujillo, Perú. Bolsista da O.P.S./O.M.S.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1 — Fontes de infecção e conservação dos triatomíneos

Cobaias jovens foram infectadas por picadas de triatomíneos coletados na natureza e que já haviam demonstrado estarem transmitindo o parasita.

Esses animais apresentavam em geral 5-7 tripomastigotas por 5 mm<sup>3</sup> de sangue. Em diferentes ocasiões lotes de *R. ecuadoriensis* criados em laboratório foram colocados para se alimentarem nos referidos animais. Os insetos não alimentados foram imediatamente eliminados. Os triatomíneos eram alimentados em pombos, cada 15 dias, nas experiências com duração maior que 30 dias. Todos os insetos eram mantidos a 26°C ± 1 e umidade relativa de aproximadamente 75%.

### 2 — Verificação de infecções intestinais e hemolinfáticas

Sessenta ninfas de III e IV estádios de *R. ecuadoriensis* que se alimentaram em cobaias infectadas foram divididas em dois lotes de 30 insetos cada um. No primeiro lote foram feitos exames de fezes e da hemolinfa, 15 dias após o repasto infectante. As dejeções foram obtidas por ligeira pressão dos últimos segmentos abdominais, sendo o material diluído em solução fisiológica e examinado a fresco com aumento de 400 x. A hemolinfa, coletada através de punção do inseto entre a 1.<sup>a</sup> e 2.<sup>a</sup> coxas ou por secção de uma das patas, era examinada a fresco e após coloração. O segundo lote de insetos foi examinado por dissecação aos 30 dias.

### 3 — Determinação do período aproximado de invasão hemolinfática

A metodologia empregada foi basicamente a descrita por GROOT<sup>12</sup>, com pequenas modificações. Aproximadamente a partir de 20 dias após o repasto infectante foram obtidas, em intervalos que variavam entre 2 a 5 dias, amostras de hemolinfa que eram examinadas a fresco e por coloração. Essas verificações foram feitas em dois lotes, de 20 e 30 triatomíneos respectivamente, sendo os positivos separados para estudo da morfogê-

nese do parasita e invasão das glândulas salivares. Os insetos que apresentaram, até os 60 dias, exames negativos, foram dissecados. Alguns insetos morreram durante o período de experiência quer devido ao traumatismo causado pela manipulação quer pela conhecida patogenicidade do parasita.

### 4 — Determinação do período aproximado da invasão das glândulas salivares através de transmissão por picada

Triatomíneos nos quais foi verificada a invasão hemolinfática foram colocados, em diferentes dias após essa comprovação, para sugar em camundongos albinos previamente anestesiados. O tempo de alimentação variou entre 20 e 30 minutos. Em uma ocasião um exemplar de *R. ecuadoriensis* macho, com parasitismo da hemolinfa datando de 65 dias, foi colocado para sugar no mesmo dia e de forma consecutiva em três diferentes camundongos, sendo interrompido o repasto 30 segundos, 1,5 minuto e 3 minutos após a introdução da probóscida.

Considerou-se positiva a transmissão quando foi possível constatar a presença de tripomastigotas sanguíneos nos camundongos empregados, através de exames de sangue a fresco, hemocultura ou xenodiagnóstico.

### 5 — Tentativas de transmissão de *T. rangeli* por inoculação de fezes de triatomíneos

Fezes espontaneamente eliminadas, coletadas de 20 ninfas de 3.<sup>o</sup> e 4.<sup>o</sup> estágio de *R. ecuadoriensis* infectados no laboratório, foram suspensas em 0,10 ml de solução fisiológica e inoculadas intraperitonealmente em 20 camundongos albinos normais. Os inóculos eram previamente examinados, verificando-se a presença de flagelados na suspensão. Três camundongos foram inoculados com fezes coletadas 9 dias após o repasto infectante do triatomíneo, 3 após 13 dias, 8 após 15 dias, 3 após 17 dias e 3 após 34 dias. Parte do inóculo foi corado com Giemsa após hidrólise ácida, sendo feitos desenhos das formas parasitárias encontradas. Nos animais inoculados foram realizados exame de sangue a fresco, xenodiagnósticos e hemoculturas.

RESULTADOS

I — Infecções intestinais

O exame de um lote de 30 ninfas de 3.º estágio, realizado 15 dias após o repasto em cobaias infectadas, mostrou que 25 exemplares (83,3%) apresentavam grande número

de flagelados nas fezes. Outro lote de 30 ninfas de 4.º estágio foi examinado por dissecação realizada 30 dias após o repasto infectante, encontrando-se, em 23 exemplares (76,6%), flagelados no tracto digestivo. Esses resultados estão expostos na Tabela I. Em ambos os grupos não foi constatada a presença de parasitas na hemolinfa.

TABELA I

Resultado do exame efetuado em fezes, conteúdo intestinal e hemolinfa de 60 ninfas III e IV de *R. ecuadoriensis*, 15 e 30 dias após o repasto em cobaias infectadas com *T. rangeli* através de triatomíneos naturalmente infectados

N.º ninfas examinadas	Estádio	Dias entre o repasto e o exame	Resultados positivos		
			Fezes	Conteúdo do tubo digestivo	Hemolinfa
30	III	15	25 (83,3%)	...	—
30	IV	30	...	23 (76,6%)	—

2 — Infecções hemolinfáticas

A Tabela II mostra que em dois outros lotes de 20 e 30 *R. ecuadoriensis* que sugaram em cobaias experimentalmente infectadas, o índice de infecção da hemolinfa foi de respectivamente 25% e 29,7%.

*Estabelecimento do período aproximado de invasão hemolinfática*

Pela mesma Tabela II vê-se que, no 1.º lote examinado, três triatomíneos apresentaram, pela primeira vez, flagelados na hemolinfa 27 dias após o repasto infectante, um exemplar aos 31 dias e finalmente, aos 36 dias um outro. No 2.º lote examinado, a invasão mais precoce da hemolinfa foi assinada em dois insetos, aos 28 dias após a alimentação infectante. Exames consecutivos praticados posteriormente revelaram um total de 9 triatomíneos com invasão hemolinfática observada entre o 28.º e o 54.º dias decorridos da refeição infectante. A mortalidade dos insetos fez diminuir o número de exemplares examinados.

*Estabelecimento do período aproximado de invasão de glândulas salivares e infectividade por picada*

Foram realizadas 16 tentativas de transmissão por picada com 12 insetos que apresentavam hemolinfa positiva para *T. rangeli*, com a finalidade de se estabelecer o período entre o aparecimento do flagelado na hemolinfa e a invasão das glândulas salivares. Os resultados obtidos estão expostos na Tabela III. Dos 12 triatomíneos empregados, 8 foram utilizados uma só vez e 4 duas vezes. O inseto número 1 transmitiu *T. rangeli* por picada 8 dias após a evidenciação do parasita pela primeira vez na hemolinfa; em geral, entretanto, a transmissão foi obtida regularmente com triatomíneos que tinham mais de 10 dias de parasitismo hemolinfático. Um dos triatomíneos (n.º 6) não transmitiu por picada mesmo 15 dias depois da constatação da infecção na hemolinfa, não podendo, devido a morte do inseto, serem feitas novas observações. Em uma oportunidade, 3 camundongos foram infectados ao serem picados em forma consecutiva

TABELA II  
Determinação do período de invasão hemolinfática em *R. ecuadoriensis* verificado por exames consecutivos após o repasto infectante em cobaias experimentalmente infectadas com *T. rangeli*

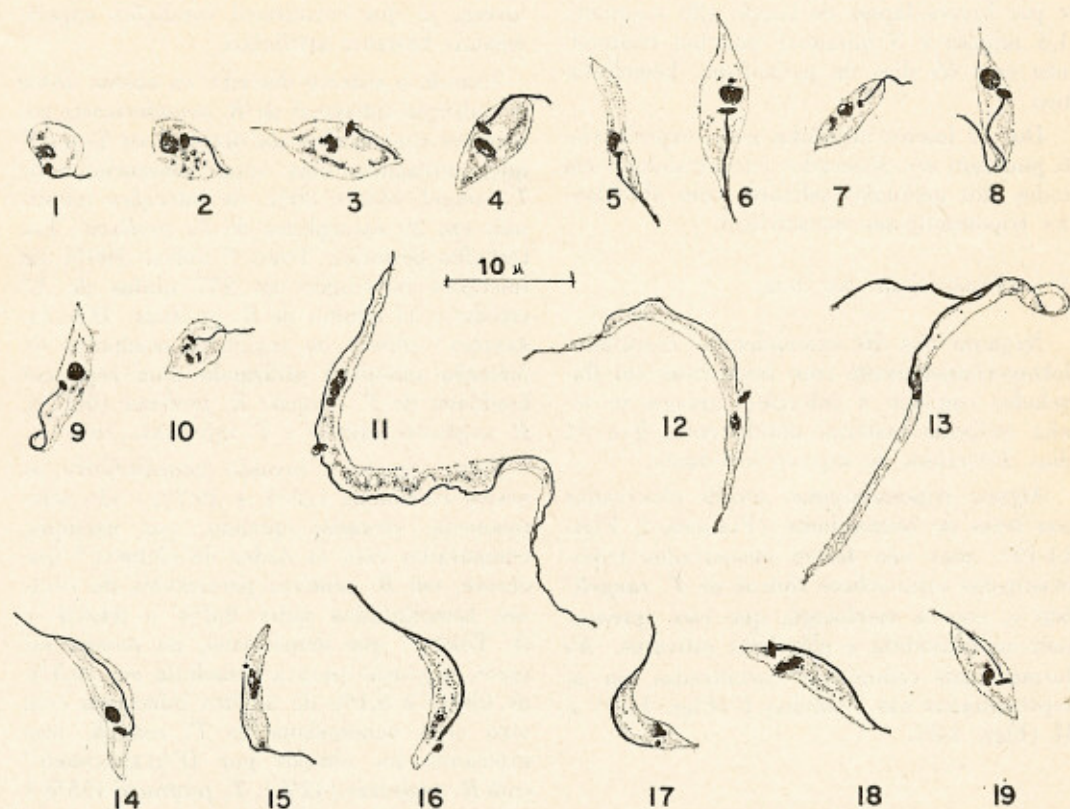
Lote N.º	N.º de dias após o repasto infectante	N.º examinados (*)	N.º positivos	% acumulada de positivos
1	20	20	—	—
	23	20	—	—
	25	20	—	—
	27	20	3	15
	31	17	1	20
	36	16	1	25
	41	15	—	25
	43	13	—	25
	Entre 44 e 60	13	—	25
2	23	30	—	—
	26	30	—	—
	28	30	2	6,7
	31	25	1	9,9
	33	21	—	9,9
	35	19	1	13,2
	38	16	1	16,5
	42	12	1	19,8
	46	9	1	23,1
	54	3	2	29,7
	60	1	—	29,7

(\*) Ninfas III e IV estádios

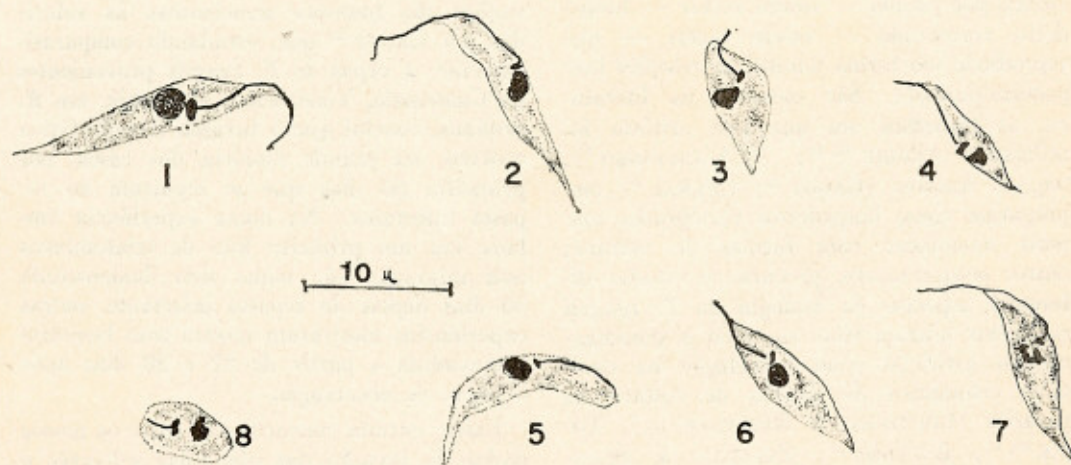
TABELA III  
Resultados das tentativas de transmissão de *Trypanosoma rangeli* a camundongos através da picada de *Rhodnius ecuadoriensis* (\*) com invasão hemolinfática

Triatomíneo N.º	N.º de dias após o repasto infectante em que se constatou a invasão da hemolinfa	N.º de dias após a invasão hemolinfática	Resultado da transmissão por picada
13	36	1	—
8	38	1	—
7	35	2	—
12	27	3	—
14	27	3	—
6	31	6	—
1	43	8	+
3	70-73	8	—
4	28	9	—
9	46	10	+
10	54	11	+
2	70-73	12	+
6	31	15	—
8	38	18	+
4	28	28	+
3	70-73	88	+

(\*) Ninfas de IV e V estádios



Prancha I — Infecção de *R. ecuadoriensis* com *T. rangeli*. Esfregação de fezes espontaneamente eliminadas 15 dias após o repasto infectante. Figs. 1-2: Formas arredondadas flageladas. Figs. 3-10: Epimastigotas curtos. Figs. 11-12: Epimastigotas longos. Fig. 13: Tripomastigota longo. Figs. 14-19: Tripomastigotas curtos. Coloração Giemsa após hidrólise ácida.



Prancha II — Infecção experimental de *R. ecuadoriensis* com *T. rangeli*. Esfregação de fezes espontaneamente eliminadas 58 dias após o repasto infectante. Figs. 1-7: Epimastigotas curtos. Fig. 8: Amastigota.

e por breves lapsos de tempo (30 segundos, 1,5 minuto e 3 minutos) por um triatomíneo com 65 dias de parasitismo hemolinfático.

Dos 12 insetos utilizados nesta experiência, 8 puderam ser dissecados encontrando-se em todos eles glândulas salivares com abundantes tripomastigotas metacíclicas.

### 3 — Transmissão por fezes

Nenhum dos 20 camundongos inoculados intraperitonealmente com fezes ricas em flagelados contraiu a infecção, embora se tenha utilizado material obtido entre 9 e 34 dias decorridos do repasto infectante.

Alguns tripomastigotas foram observados nas fezes de triatomíneos (Prancha I, Figs. 14-19), mas não foram encontrados tripomastigotas metacíclicos típicos de *T. rangeli*, isto é, com a morfologia que eles apresentam na hemolinfa e glândulas salivares. As formas mais comumente encontradas são as representadas nas Pranchas I (Figs. 1-13) e II (Figs. 1-8).

## DISCUSSÃO

Usando o critério de TOBIE<sup>20</sup> de produzir as chamadas "infecções naturais de triatomíneos", estabelecemos, no laboratório, para o *R. ecuadoriensis* um sistema de transmissão cíclica por picada — inseto vector — hospedeiro vertebrado — inseto vector — que reproduzia em forma natural as relações hospedeiro-parasita. São escassos, na literatura, os trabalhos em que esse critério foi utilizado (TOBIE<sup>21, 22</sup>; D'ALESSANDRO<sup>7</sup>). Alguns Autores (GROOT<sup>12</sup>; GREWAL<sup>9</sup>) empregaram como hospedeiros vertebrados animais inoculados com formas de cultura; outros pesquisadores, procurando estudar diferentes aspectos da biologia do *T. rangeli* no vector usaram técnicas como o xenodiagnóstico artificial e/ou inoculação na cavidade celomática de formas de cultura do parasita (COUTINHO & NUSSENZWEIG<sup>3</sup>; TOBIE<sup>20, 21</sup>; ZELEDÓN<sup>25</sup>; ZELEDÓN & BLANCO<sup>26</sup>; HERRER<sup>14</sup>; WATKINS<sup>24</sup>). Esses métodos, em nossa opinião, não refletiriam estritamente o que estaria ocorrendo em a na-

tureza, já que constituem condições experimentais bastante artificiais.

Usando o sistema descrito, os nossos dados de infecção intestinal de *R. ecuadoriensis* podem ser comparados aos obtidos por TOBIE<sup>20</sup> que, utilizando uma cepa venezuelana de *T. rangeli* obteve 80% de infecções intestinais em 20 exemplares de *R. prolixus*. Em trabalho posterior, TOBIE<sup>22</sup> obteve 100% de infecções intestinais em 237 ninfas de 1.º estágio e 44 adultos de *R. prolixus*. D'ALESSANDRO<sup>7</sup> obteve os seguintes resultados de infecção intestinal utilizando uma cepa colombiana de *T. rangeli*: *R. prolixus* (64%), *R. neglectus* (42%) e *T. infestans* (16%).

Com respeito a invasão hemolinfática os nossos resultados (25% e 29,7%) são relativamente elevadas quando, por exemplo, comparadas com os dados de GREWAL<sup>9</sup> que obteve, em *R. prolixus* percentuais de invasão hemolinfática entre 6,8% e 24,6% e de TOBIE<sup>22</sup> que demonstrou, na mesma espécie, migração para a hemolinfa em 16,5% de ninfas e 9,1% de adultos infectados com uma cepa venezuelana de *T. rangeli*, mas inferiores aos obtidos por D'ALESSANDRO<sup>7</sup> com *R. neglectus* (42%), *T. protracta* (55%) e *T. rubrovaria* (95%), exceptuando-se *R. prolixus* (20%).

Em relação ao estabelecimento do período aproximado em que a cepa peruana de *T. rangeli* logra invadir a hemocele e glândulas salivares do *R. ecuadoriensis*, nossas observações são bastante semelhantes às referidas por GROOT<sup>12</sup> que, estudando comparativamente, 4 cepas de *T. rangeli* provenientes da Guatemala, Venezuela e Colômbia, em *R. prolixus*, conclui que a invasão hemolinfática ocorreu, na grande maioria dos casos, nos primeiros 50 dias que se seguiram ao repasto infectante. Na nossa experiência embora em um primeiro lote de triatomíneos essa migração não tenha sido demonstrada 30 dias depois do repasto infectante, outras experiências mostraram insetos com hemolinfa invadida a partir de 27 e 28 dias após o início da observação.

Existe estreita concordância entre os nossos dados de invasão das glândulas salivares e de transmissão por picada com o *R. ecuadoriensis* e as verificações efetuadas com *R. prolixus* por GROOT<sup>11</sup>, que obteve infecções



de ratos por picada de triatomíneos nos quais o parasitismo hemolinfático já havia se estabelecido há mais de 10 dias. O mesmo Autor (GROOT<sup>12</sup>) afirma haver conseguido transmitir sempre a infecção pela picada de exemplares de *R. prolixus* com 17 ou mais dias de parasitismo na hemolinfa. GREWAL<sup>9</sup> descreve que as glândulas salivares de *R. prolixus* se tornaram infectadas 10-15 dias após o aparecimento da infecção na hemolinfa, conseguindo transmissão por picada utilizando ninfas que haviam sido infectadas há um mês. TOBIE<sup>20</sup>, utilizando 40 ninfas de *R. prolixus* infectadas por via natural, conseguiu que 3 exemplares transmitissem o *T. rangeli* por picada entre 16 e 24 dias após o repasto infectante. Embora REY MATIZ<sup>19</sup> tivesse relatado o encontro, em 2 exemplares de *R. prolixus* coletados na Colômbia, de formas evolutivas do *T. rangeli* nas glândulas salivares, esse achado passou despercebido, por vários anos, para a maioria dos investigadores que estudavam esse parasita. Barnola, segundo PIFANO & MAYER<sup>17</sup> encontrou, na probóscida de um *R. prolixus* abundantes tripomastigotas com morfologia correspondente a *T. rangeli*; alertados por este achado PIFANO & MAYER<sup>17</sup> iniciaram o exame sistemático do material da probóscida de exemplares dessa espécie de triatomíneos naturalmente infectados, logrando assinalar a presença do parasita em 5 insetos entre 147 examinados. A partir desses fatos, outras investigações foram realizadas, confirmando-se a existência de uma evolução anterior do flagelado (GROOT & URIBEPIEDRAHITA<sup>10</sup>; GROOT<sup>11</sup>). A medida que o ciclo evolutivo no hospedeiro invertebrado foi sendo melhor conhecido, através de estudos em triatomíneos natural e experimentalmente infectados, foi ficando claro que a transmissão do parasita ao hospedeiro vertebrado era feita basicamente pela via inoculativa através da picada do vector (GROOT<sup>12</sup>; TOBIE<sup>20, 21</sup>; D'ALESSANDRO<sup>6</sup>; D'ALESSANDRO & MANDEL<sup>5</sup>). Entretanto, HOARE<sup>15, 16</sup> acha razoável aceitar que esse tripanosoma seja transmissível tanto pelo método contaminativo como pelo inoculativo, sendo, aparentemente, esse último o mais eficaz. Considera HOARE haver controvérsias em relação à evolução do parasita nas suas

fases intestinal e extra-intestinal e que o estudo das fases intestinais tem sido negligenciado pela maioria dos investigadores sendo necessário reavaliar esse aspecto do ciclo em virtude das implicações que apresenta para a posição sistemática do *T. rangeli*. Conclui aquele Autor que o *T. rangeli* deve ser considerado como uma espécie de "Stercoraria aberrante" que apresenta, no vector, um desenvolvimento e um modo de transmissão que têm características tanto de inoculação (Salivaria) como de contaminação (Stercoraria).

Conforme foi ressaltado por TOBIE<sup>23</sup> e D'ALESSANDRO<sup>6</sup>, o aparente sucesso na transmissão do *T. rangeli* por inoculação de material intestinal e/ou fezes de triatomíneos infectados, obtido por vários Autores (COUTINHO & NUSSENZWEIG<sup>3</sup>; GROOT & URIBEPIEDRAHITA<sup>10</sup>; PIFANO<sup>18</sup>; HERBIG-SANDREUTER<sup>13</sup>; GREWAL<sup>8</sup>), poderia ser explicado por uma provável contaminação do inóculo com formas hemolinfáticas. Esse raciocínio é aparentemente confirmado pelo fato de que TOBIE<sup>20</sup> e D'ALESSANDRO<sup>6</sup> relataram a infectividade da hemolinfa de insetos parasitados para hospedeiros vertebrados e pela presença de tripomastigotas metacíclicos na hemolinfa de *R. prolixus* e *R. ecuadoriensis* (TOBIE, 1970; CUBA & col.<sup>2</sup>). Além disso, D'ALESSANDRO<sup>6</sup> sugere que a presença de tripomastigotas metacíclicos viáveis nas fezes e conteúdo intestinal dos triatomíneos poderiam explicar o êxito da inoculação com esse tipo de material.

Estudos procurando demonstrar que o modo de transmissão é unicamente por "anterior station" têm sido efetuados por diversos pesquisadores (TOBIE<sup>20, 21</sup>; D'ALESSANDRO<sup>6</sup>). Esses Autores inocularam em ratos e camundongos, por diversas vias, fezes eliminadas por triatomíneos infectados, sem que lograssem transmitir a infecção. Nossos dados confirmam as observações dos citados Autores, já que também não conseguimos transmitir a cepa peruana de *T. rangeli* utilizando fezes espontaneamente eliminadas por *R. ecuadoriensis* em diversos períodos da infecção experimental. A observação de parte do material que constitui o inóculo não revelou a presença de tripomastigotas meta-

cíclicos, o que concorda com o descrito por TOBIE<sup>21</sup> mas discrepa do observado por GREWAL<sup>8</sup>.

#### S U M M A R Y

*Study of a Peruvian strain of Trypanosoma rangeli. II — Observations on the experimental infection of Rhodnius ecuadoriensis*

*Rhodnius ecuadoriensis* fed on animals infected with *Trypanosoma rangeli* presented haemolymph parasitism 27-54 days after the infective meal; in two groups of 20 and 30 insects, the percentage of haemolymph involvement was, respectively, 25% and 29.7%. Transmission by bite could be regularly obtained with *R. ecuadoriensis* presenting more than 10 days of haemolymph infection.

*T. rangeli* forms spontaneously eliminated in the faeces of infected *R. ecuadoriensis* failed to infect mice.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CUBA, C.; MORALES, N.; FERNANDEZ, E. & FERNANDEZ, W. — Hallazgo de *Rhodnius ecuadoriensis* naturalmente infectado por tripanosomas semejantes a *Trypanosoma rangeli* en Cascas, Contumazá, Cajamarca. *Libro de Resúmenes del III Congreso Peruano de Microbiología y Parasitología*, Trujillo, Peru, 1970.
2. CUBA, C.; MORALES, N.; FERNANDEZ, E. & FERNANDEZ, W. — Hallazgo de *Rhodnius ecuadoriensis* Lent & León, 1958 infectado naturalmente por tripanosomas semejantes a *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920 en caseríos del distrito de Cascas Contumazá, Dpto. de Cajamarca, Peru. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 14:191-202, 1972.
3. COUTINHO, J. O. & NUSSENZWEIG, V. — Infecção experimental de triatomíneos pelo *Trypanosoma rangeli*, Tejera 1920. *Fol. Clin. Biol.* 18:181-188, 1952.
4. D'ALESSANDRO, A. — The life cycle of *Trypanosoma rangeli* in triatomid bugs as it occurs in nature. *Bull. Tulane Univ. Med. Fac.* 23:21, 1963.
5. D'ALESSANDRO, A. & MANDEL, S. — Natural infections and behavior of *Trypanosoma rangeli* and *Trypanosoma cruzi* in the vector *Rhodnius prolixus* in Colombia. *J. Parasitol.* 55:846-852, 1969.
6. D'ALESSANDRO, A. — Transmission of *Trypanosoma rangeli* to mammals and triatomid bugs. *Proceedings of the Second International Congress of Parasitology*, Washington p. 6, 1970.
7. D'ALESSANDRO, A. — New experimental vectors of colombian *Trypanosoma rangeli*. *J. Med. Ent.* 9:187-195, 1972.
8. GREWAL, M. S. — *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920, in its vertebrate and invertebrate hosts. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 50:301-302, 1956.
9. GREWAL, M. S. — Pathogenicity of *Trypanosoma rangeli*, Tejera, 1920 in the invertebrate host. *Exp. Parasitol.* 6:123-130, 1957.
10. GROOT, H. & URIBE-PIEDRAHITA, C. — Nota preliminar sobre transmisión experimental de *Trypanosoma ariarii*. *An. Soc. Biol. Bogotá* 4:221-225, 1951.
11. GROOT, H. — Further observations on *Trypanosoma ariarii* of Colombia, South America. *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.* 1:585-592, 1952.
12. GROOT, H. — Estudios sobre los trypanosomas humanos clasificados como *T. rangeli* con especial referencia a su evolución en *Rhodnius prolixus* y a su comparación con *T. ariarii*. *An. Soc. Biol. Bogotá* 6:109-126, 1954.
13. HERBIG-SANDREUTER, A. — Experimentelle Untersuchungen über den Cyclus von *Trypanosoma rangeli* Tejera 1920 im Warublüter und in *Rhodnius prolixus*. *Acta Trop.* 12:261-264, 1955.
14. HERRER, A. — Trypanosomiasis producida por el *Trypanosoma rangeli* en el Perú. *Libro de Conferencias y Mesas Redondas III Congr. Peruano de Microbiol. y Parasitol.*, Trujillo, Peru, pp. 31-39, 1971.
15. HOARE, C. A. — Morphological and Taxonomic studies on Mammalian Trypanosomes. XI. The systematic position of *Trypanosoma rangeli*. In *Medicina Tropical*, ANSELM, A. (Ed.) México, Fournier S.A., pp. 277-289, 1968.
16. HOARE, C. A. — *The Trypanosomes of Mammals. A zoological Monograph*. Oxford and Edinburgh, Blackwell Scientific Publications, 1972.
17. PIFANO, F. & MAYER, M. — Hallazgo de formas evolutivas del *Trypanosoma rangeli* en el jugo de la trompa de *Rhodnius prolixus* de Venezuela. *Arch. Venez. Patol. Trop. Parasit. Méd.* 1:153-158, 1953.



---

CUBA, C. A. C. — Estudio de una cepa peruana de *Trypanosoma rangeli*. II — Observações sobre a infecção experimental de *Rhodnius ecuadoriensis*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 16:19-27, 1974.

---

18. PIFANO, C. F. — Nueva trypanosomiasis humana de la región neotrópica producida por el *Trypanosoma rangeli*, con especial referencia a Venezuela. *Arch. Venezol. Patol. Trop. Parasitol. Méd.* 2:89-120, 1954.
19. REY MATIZ, H. — Observaciones sobre Trypanosomas en Colombia. *Rev. Fac. Med. Bogotá* 10:25-49, 1941.
20. TOBIE, E. J. — Experimental transmission and biological comparison of strains of *Trypanosoma rangeli*. *Exp. Parasitol.* 11:1-9, 1961.
21. TOBIE, E. J. — Increased infectivity of a cyclically maintained strain of *Trypanosoma rangeli* to *Rhodnius prolixus* and mode of transmission by invertebrate host. *J. Parasitol.* 50:593-598, 1964.
22. TOBIE, E. J. — Biological factors influencing transmission of *Trypanosoma rangeli* by *Rhodnius prolixus*. *J. Parasitol.* 51:837-841, 1965.
23. TOBIE, E. J. — The relation of *Trypanosoma rangeli* to its vector. In *Medicina Tropical*, ANSELM, A. (Ed.) México, Fournier S.A., pp. 291-305, 1968.
24. WATKINS, R. — Histology of *Rhodnius prolixus* infected with *Trypanosoma rangeli*. *J. Invertebrate Pathol.* 17:59-66, 1971.
25. ZELEDON, R. — Tripanosomiasis rangeli. *Rev. Biol. Trop.* 12:231-268, 1964.
26. ZELEDON, R. & BLANCO, E. — Relaciones huésped-parásito en tripanosomiasis rangeli. I — Infección intestinal y hemolinfática comparativa de *Rhodnius prolixus* y *Triatoma infestans*. *Rev. Biol. Trop.* 13:143-156, 1965.

---

Recebido para publicação em 10/5/1973.