

**HALLAZGO EN EL MUNICIPIO CRISTO DE ARANZA,  
MARACAIBO-VENEZUELA, DE *TRITOMA MACULATA*  
ERICHSON, 1848 INFECTADO CON  
*TRYPANOSOMA CRUZI* CHAGAS, 1909:  
ASPECTOS BIOLÓGICOS DE LA CEPA.**

*Tania B. Romero de Olaría.\**

RESUMEN

Un triatomino adulto fue encontrado en el interior de una vivienda ubicada en el Barrio Corito, Haticos por arriba, Municipio Cristo de Aranza, Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela. El reduvído fue clasificado según la clave de Cova García (16) como *Triatoma maculata*, el cual presentó en el contenido intestinal formas evolutivas de un tripanosoma semejante a *Trypanosoma cruzi*. El material positivo fue inoculado intraperitonealmente a 23 ratones blancos (*Mus Musculus*) adquiriendo todos la infección, con formas tripomastigotas en sangre periférica de longitud total media  $16,26 \pm 3,35$  micras y un índice nuclear medio de  $1,10 \pm 0,2$ . Seis ratones murieron antes del sexto mes, uno fue sacrificado y el resto pasó a la fase crónica. La tasa de letalidad fue del 27, 27% . Los ratones muertos presentaron en su totalidad lesiones cardíacas con abundantes formas amastigotas; los que sobrevivieron adquirieron resistencia contra inoculaciones posteriores con una cepa virulenta de ori-

\* Profesora Agregada. Cátedra de Parasitología. Universidad del Zulia, Facultad de Medicina

gen humano (cepa Y). Las observaciones anteriores, más los resultados de los datos biométricos permitieron identificar el tripanosoma aislado como *Trypanosoma cruzi*.

#### ABSTRACT

An adult triatominae was found inside a house located in Corito, Haticos, Cristo of Aranza community. Maracaibo, State of Zulia, Venezuela - S.A. The reduviedo was classified using the Cova García code (16) as *Triatoma maculata*, which was found in the intestinal content in different forms similar to *Trypanosoma cruzi*. The positive material was inoculated intraperitoneally into 23 white mice (*Mus musculus*). Finally all demonstrated infection, with tripomastigotas forms in the blood, with a total mean length of 16,  $26 \pm 3,35 \mu$  and a mean nuclear index of  $1,10 \pm 0,2$ . Six mice died before the sixth month, one was sacrificed and the other came into chronic phase. The lethal rate was of 27,27% . The dead mice showed cardiac damage with abundant amastigotas forms, those that survived acquired resistance against further inoculations to virulent strain of human origin (strain Y) earlier observations, and the results of the biometric data allowed us to identify the isolated tripanosoma as *Trypanosoma cruzi*.

#### INTRODUCCION

La enfermedad de Chagas se comporta como una endemia en el medio rural venezolano y constituye en el país un problema de salud pública. Diagnosticada por primera vez en Venezuela por el Dr. Enrique Tejera en 1919 (56), hasta 1934 no hubo ninguna referencia al respecto y es en este año cuando inicia el Dr. José Francisco Torrealba (60) su amplia labor de estudio sobre esta enfermedad; posteriormente en 1938 el Dr. Félix Pifano (42) da comienzo a sus investigaciones sobre esta infección, a partir de entonces son numerosos los trabajos que sobre los diferentes aspectos de la infección chagásica han sido publicados en el país.

En la actualidad luego de las medidas de control se nota un grado avanzado de interrupción en la transmisión de la infección; al comparar la situación entre los períodos 1959-68 y 1980-81 se reporta (23): disminución importante de la prevalencia en todos los grupos etarios de la población, de un promedio inicial (1959-68) de 44,4% a 13,4% (1980-81); la seropositividad de la población nacida después de iniciadas las actividades de control en los grupos de 0-9 y 10-19, disminuyó del 20,5% al 1,3% del 28,4% al 2,7% respectivamente, lo cual habla de la eliminación de los vectores en las casas y peridomicilio.

El insecto transmisor de *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909, es un hemíptero de la subfamilia Triatominae. La inmensa mayoría de las especies de esta subfamilia son silvestres o se acercan sólo excepcionalmente a la habitación humana. Pero existe un pequeño grupo que por haberse adaptado a vivir en la vivienda humana (endofilia) y por alimentarse sobre el hombre (antropofilia), tienen un valor epidemiológico fundamental. Las principales especies son: *Triatoma infestans*, *Triatoma dimidiata*, *Rhodnius prolixus*, *Panstrongylus megistus* y *Triatoma phyllosoma*. Otras especies ocasionalmente halladas en la vivienda humana son: *Triatoma sórdida*, *Triatoma platensis*, *Triatoma rubiovaria*, *Rhodnius ecuadoriensis*, *Rhodnius pallescens*, *Thodnius pictipes*, *Panstrongylus chinai* y *Panstrongylus geniculatus*.

El control de la enfermedad de Chagas en Venezuela se efectúa mediante la lucha contra el vector *Rhodnius prolixus*, el cual es el más importante debido a su amplia difusión, su domiciliaridad, antropofilia acentuada y hábito de defecar en el 50% de los casos después de alimentarse. El control del transmisor se realiza mediante la aplicación de rociamientos con insecticidas de acción residual en las viviendas y sus anexos, ubicados en localidades del medio rural con poblaciones menores de 5.000 habitantes, así como en aquellas con mayor población que por sus condiciones epidemiológicas los requieren (37).

*Rhodnius prolixus* se encuentra distribuido ampliamente a nivel nacional y adquiere importancia cuando se compara su presencia con la población humana correspondiente a esa área geográfica, en la cual, de 691 municipios existentes en el país el 85,5% de los mismos están infestados por este triatomo, cubriendo una extensión de 697.049 Km<sup>2</sup> (76,1% del territorio nacional), con una población estimada para 1.982 de 11.392.844 habitantes, 77,4% de la población del país (37).

Se consigue este vector en todos los pisos térmicos, tanto en los llanos como en zonas montañosas, predominando entre 400 y 1.200 mts. sobre el nivel del mar, con características climáticas de tipo tropical y subtropical (37).

La adaptación de *Rhodnius prolixus* selvático, a la vivienda campesina, procedente de su ecotopo natural, altamente infectado con *Trypanosoma cruzi* constituye factor de suma importancia en la transmisión de la enfermedad de Chagas al hombre, por cuanto contribuye a mantener el ciclo biológico del parásito y potencialmente a reactivar focos de transmisión de la enfermedad (12) (45).

En áreas de monte de zonas muy secas la población de *Rhodnius proxilus* decrece en los domicilios ocupando el nicho ecológico, otra especie cuya significación epidemiológica aún está insuficientemente estudiada como es *Triatoma maculata*, vector secundario que destaca fundamentalmente por sus hábitos peridomiciliarios y ornitofilia, y para el cual también existen programas de control (13) (16) (37).

*Triatoma maculata* se encuentra presente en 435 municipios (62,0% del total del país), abarca una superficie de 606.560 Km<sup>2</sup>, 66,6% del territorio nacional y

una población de 8.607.275 habitantes, 58,4% de la población venezolana, predominando en áreas hasta 500 mts. sobre el nivel del mar (11) (37).

*Triatoma maculata* se encuentra en el peridomicilio vinculado a la presencia de nidos de aves, su infección natural por *Trypanosoma cruzi* es menor que en *Rhodnius prolixus* (37); sin embargo en los últimos años se han venido encontrando ejemplares en el interior de las viviendas lo cual es considerado por algunos autores (59) (61) como un proceso de adaptación a la habitación humana.

Existen 100 municipios de Venezuela donde no se ha determinado la presencia de triatomíneos, y que están ubicados en una superficie de 218.692 Km<sup>2</sup>., que presenta el 23,9% del total de la superficie nacional, con una población de 3.332.746 habitantes (37).

Se ha señalado como área programática para el control de la enfermedad de Chagas en Venezuela aquella donde prevalecen mayormente *Rhodnius prolixus* y *Triatoma maculata*, con presencia de una mayor densidad de población. Se incluyen en ella 14 entidades federales en las cuales se efectúa cobertura total, con insecticidas de acción residual y comprendida en una superficie de 248.980 Km<sup>2</sup> y una población de 9.990.832 habitantes. En los Estados Mérida, Sucre y Táchira el programa se efectúa parcialmente. De tal manera que la cobertura parcial está dada por una superficie de 34.200 Km<sup>2</sup> y una población de 1.749.562 habitantes (37).

El programa se proyecta extender hacia seis entidades federales con una extensión de 632.561 Km<sup>2</sup> y una población de 2.985.196 habitantes, donde aún no está bien determinada la distribución geográfica de los vectores (37).

Luego de las medidas de control en la evaluación entomológica se puede observar que la infestación por *Rhodnius prolixus* en casas, ha venido descendiendo hasta 0,7% en 1982. La evaluación parasitológica de los triatomíneos examinados para determinar los porcentajes de infección por *Trypanosoma cruzi*, han revelado índices 0,8% en los años 1979-1980, para aumentar en 1981 a 1,1% y disminuir a 0,8% en 1982 (37).

Existen tres ciclos de la enfermedad de Chagas: silvestre, domiciliario y peridomiciliario (12).

El ciclo silvestre reconoce especies de vectores y huéspedes silvestres entre los que circula *Trypanosoma cruzi* (12) (48). Asociaciones típicas de este ciclo son las de *Panstrongylus geniculatus* con edentados, las de *Rhodnius pictipes* con marsupiales y roedores silvestres, y la de *Cavernicola pilosa* con mucílagos. Si una persona vive en este ecosistema puede ser picado por uno de estos triatomíneos y por contaminación fecal ser infectado (12).

El ciclo domiciliario en cambio se realiza a través de vectores que colonizan dentro de la vivienda humana y de los mamíferos que conviven con el hombre, el cual es el más importante reservorio del parásito.

En estudios realizados en muchas regiones y localidades de diversos países de América se encontró siempre que los índices de infecciones humanas por *Trypanosoma cruzi*, eran mayores a las tasas encontradas en perros o gatos de las mismas localidades y viviendas; esto puede deberse a varios factores, uno de los cuales insuficientemente estudiado es la cobertura pilosa de los animales contra la desnudez de la piel humana; por lo tanto, tiene más probabilidad de infectarse con la deyección contaminante el ser humano que el animal que interpone una gruesa capa de pelos (12).

En el ciclo peridomiciliario especies de triatomínos que viven en gallineros, conejeras, etc. mantienen la transmisión a través de mamíferos allí criados o refugiados (cobayos, ratones y marsupiales) o, de otros mamíferos domesticados que duermen a la intemperie o en esos refugios. El riesgo para el hombre es relativamente alto, no sólo por la proximidad a la vivienda sino por la costumbre y especialmente en áreas tropicales o en épocas calurosas de dormir a la intemperie (12).

La transmisión de *Trypanosoma cruzi* del reservorio selvático al medio doméstico es un fenómeno ocasional, cuando sucede suele ser el resultado de la acción conjunta de vectores y reservorios, y pueden presentarse las siguientes modalidades: 1.- Hombre o animales domésticos pueden ocasionalmente ser infectados en ambientes selváticos por triatomínos de hábitos silvestres y constituyen luego fuente de infección para los triatomínos domésticos.

2.- Vectores silvestres llevan los parásitos a los mamíferos del área doméstica de donde son recogidos por triatomínos de hábitos peridomiciliarios e introducidos en los domicilios, donde se propagan gracias a los vectores domiciliarios como *Rhodnius prolixus*. 3.- Los reservorios silvestres pueden acercarse a la vivienda humana e infectar triatomínos de hábitos domiciliarios o peridomiciliarios que son encargados de llevar la infección al hombre. Diversos investigadores han procurado demostrar la presencia de *Trypanosoma* semejante a *Trypanosoma cruzi* en gran variedad de animales silvestres. Se consideran actualmente reservorios de *Trypanosoma cruzi* los siguientes mamíferos: Marsupiales, quirópteros, primates, desdentados, carnívoros, roedores, artiodáctilos y lagomorfos (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (10) (22) (24) (25) (26) (28) (30) (38) (40) (41) (43) (45) (48) (53) (54) (58).

Otras formas de transmisión de *Trypanosoma cruzi* son: 1.- Forma congénita de gran importancia clínica y epidemiológica, el primer caso humano comprobado fue publicado en Venezuela por Dao (17) en el año 1949, al reportar el hallazgo de formas tripomastigotas del parásito en un recién nacido de dos días de edad; posteriormente se han publicado otros casos por diversos autores (12) (32) (33) (34) (43) (44) (49) (50) (55) (57).

2.- La infección por transfusión sanguínea es una verdadera forma iatrogénica, Cerisola y cols., citados por Carcavallo (12) encontraron en la ciudad de Buenos Ai-

res en Bancos de Sangre "investigados", más de 5% de muestras infectadas por *Trypanosoma cruzi*. En la misma ciudad estudios realizados en hemofílicos que recibieron múltiples transfusiones, demostraron índices de infección significativos en individuos que no salieron de Buenos Aires y que, por lo tanto no pudieron ser infectados por triatominos. Maekelt (35) en 1959 resalta el alto porcentaje de seropositividad para la enfermedad de Chagas entre donantes de sangre, y sugiere la necesidad urgente de establecer la prueba de Machado-Guerreiro como examen rutinario en todos los Bancos de Sangre de Venezuela, debido a la probabilidad de transmisión de *Trypanosoma cruzi* por transfusión sanguínea, la cual fue demostrada por Salazar y cols (51) en 1962 y otros autores (29) (45) (46).

3.- La infección por vía digestiva es probable en el hombre, Mayer y cols., citados por Carcavallo (12) la demostraron experimentalmente en animales mediante la ingestión de alimentos contaminados con deyecciones de insectos infectados con *Trypanosoma cruzi*. Díaz Ungría (21) infectó perros por vía oral, administrándoles cápsulas de gelatina que contenían heces de *Rhodnius prolixus* positivas para *Trypanosoma cruzi*.

4.- La infección accidental del personal que trabaja con cultivos de *Trypanosoma cruzi* y con animales infectados, así como, en trabajadores o cazadores que realizan el desollamiento de mamíferos, es posible a través de pequeñas erosiones o soluciones de continuidad en la piel.

La distribución geográfica de triatominos reservorios y huéspedes abarca casi todo el Continente Americano. Existen factores bióticos, abióticos y socio-culturales del antroposistema responsables de la endemia chagásica (13). Los antroposistemas pueden ser divididos en dos grandes grupos: rurales y urbanos (13). La llegada a los ambientes urbanos pobres de pobladores del medio rural trae aportes de vectores en sus maletas, ropas, muebles y enseres que pueden vehiculizar huevos y ninfas de triatominos que al conseguir en las viviendas construidas con materiales precarios en las zonas urbanas, un buen sitio para refugiarse, evolucionan y se alimentan de sus moradores. Al mismo tiempo pueden traer al medio urbano reservorios de la enfermedad de Chagas como: perros, gatos u otros animales muchas veces infectados con *Trypanosoma cruzi* (12).

Los triatominos cuentan con abundante fuente de alimentación en las reducidas viviendas y tienen la facilidad de infectar a otras casas por la cercanía del vecindario. En la provincia de Salta, Argentina una sola casa infestada produjo la infestación del 67% de las viviendas en un plazo de un año. Los índices de infección en estas áreas son altos debido a la concentración de viviendas, habitantes, reservorios y vectores, a pesar de que las poblaciones de triatominos no alcanzan las magnitudes de las áreas rurales (12).

En vista de la importancia epidemiológica que revisten los vectores en la transmisión de la enfermedad de Chagas, de las características biológicas y patogénicas de

las diferentes cepas de *Trypanosoma cruzi*, así como la relación de los reservorios entre sí y el hombre, el hallazgo de un triatomino en el interior de la vivienda humana en el medio urbano, despertó nuestro interés y decidimos investigar la presencia de *Trypanosoma cruzi* en su contenido intestinal por la probabilidad de que se establezca la cadena epidemiológica de la enfermedad de Chagas en la zona en estudio Barrio Corito, Municipio Cristo de Aranza, Maracaibo, Venezuela, lo cual constituye el motivo del presente estudio.

## MATERIALES Y METODOS

Un triatomino adulto fue encontrado en el interior de una vivienda ubicada en el Barrio Corrito, Haticos por arriba, Municipio Cristo de Aranza, Maracaibo-Estado Zulia; es traído por sus moradores al laboratorio de la Cátedra de Parasitología de la Facultad de Medicina, Universidad del Zulia para su estudio.

El Municipio Cristo de Aranza (14) tiene una superficie de 3.100 hectáreas, 50 barrios y 84.000 habitantes aproximadamente. Limita por el norte, con el eje de la cañada el Manglar o de Morillo en donde está el puente del mismo nombre, partiendo desde la desembocadura de la cañada en el lago hasta su intersección con el camino real que va a Perijá; luego este camino es una longitud de tres kilómetros hacia el oeste. Por el sur una recta que parte desde la desembocadura de la cañada El Manzanillo en el lago y va con rumbo oeste franco hasta encontrar el camino real que conduce a Perijá. Por el este el Lago de Maracaibo desde la boca de la cañada El Manglar o de Morillo hasta la desembocadura de la cañada de El Manzanillo. Por el oeste el camino real de Perijá indicado, desde donde termina los tres kilómetros determinados en el lindero norte hasta encontrar el lindero sur de este Municipio. El tipo de construcción de las residencias es heterogéneo y los pobladores viven con gran variedad de animales: palomas, gallinas, perros, gatos, etc.

Una vez clasificado el triatomino según la clave de Cova García (16) se procedió a su estudio parasitológico en busca de formas evolutivas de *Trypanosoma cruzi*, para ello se examinó la hemolinfa y el contenido intestinal al fresco y por coloración con la técnica de Giemsa. Para las preparaciones coloreadas del contenido intestinal se empleó la siguiente técnica:

- Mezclar heces del triatomino con 1.5cc de solución salina.
- Recoger en tubo capilar parte del material aproximadamente 0.06 cc.
- Sellar un extremo del tubo capilar.
- Colocar el tubo capilar en el interior de un tubo de centrífuga.
- Centrifugar a 3.000 r.p.m. por 2 minutos.
- El sedimento obtenido extenderlo sobre lámina porta objetos y colorear con Giemsa.

El resto de la suspensión (heces-solución salina) fue utilizada para aislar la cepa mediante la inoculación intraperitoneal de ratones blancos (*Mus musculus*), de 20 días de nacidos a razón de 0,4 cc. por cada animal de experimentación.

Los ratones fueron examinados cada 2 días mediante examen de sangre obtenida por sección de la cola; utilizando el método de Pizzi (47) se procedió a cuantificar la parasitemia. A los ratones que fallecieron se les retiró el corazón para practicar cortes histológicos los cuales fueron coloreados con hematoxilina eosina.

Se realizaron frotis de sangre de ratón para llevar a cabo el estudio morfológico del parásito en diferentes etapas de la infección. Para el estudio biométrico se utilizó un microscopio Leitz con dispositivo para proyectar directamente sobre papel y las medidas recomendadas por Dias y Freitas (20) fueron practicadas con un curvómetro de escala 1:100.000.

Para demostrar la susceptibilidad de otros triatominos, 40 ninfas de *Rhodnius prolixus* en quinto estado evolutivo y en prolongado ayuno, fueron alimentadas de ratones infectados con la cepa en estudio.

Después de aislada la cepa fue mantenida en ratones blancos de 20 días de nacidos, mediante repiques con sangre en intervalos de 20 a 35 días a fin de estudiar el comportamiento de la infección.

Se practicó prueba de inmunidad cruzada para la cual se empleó cepa Y de *Trypanosoma cruzi* de demostrada virulencia, según Silva y Nussenzweig (52) la cepa Y produce una infección en el 100 % con mortalidad de 94 % en 2 a 3 semanas, cuando es inoculada por vía intraperitoneal a ratones blancos jóvenes. Se inocularon tres ratones en fase crónica y tres controles libres de la infección, de la misma edad y peso, los cuales fueron inoculados con la cepa Y, a igual dosis, por la misma vía y mantenidos en idénticas condiciones.

## RESULTADOS

El triatomino capturado en el Barrio Corito, Haticos por arriba, Municipio Cristo de Aranza, Distrito Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela. (Figura 3), fue clasificado según la clave de Cova García (16) como *Triatoma maculata*. (Figura 4).

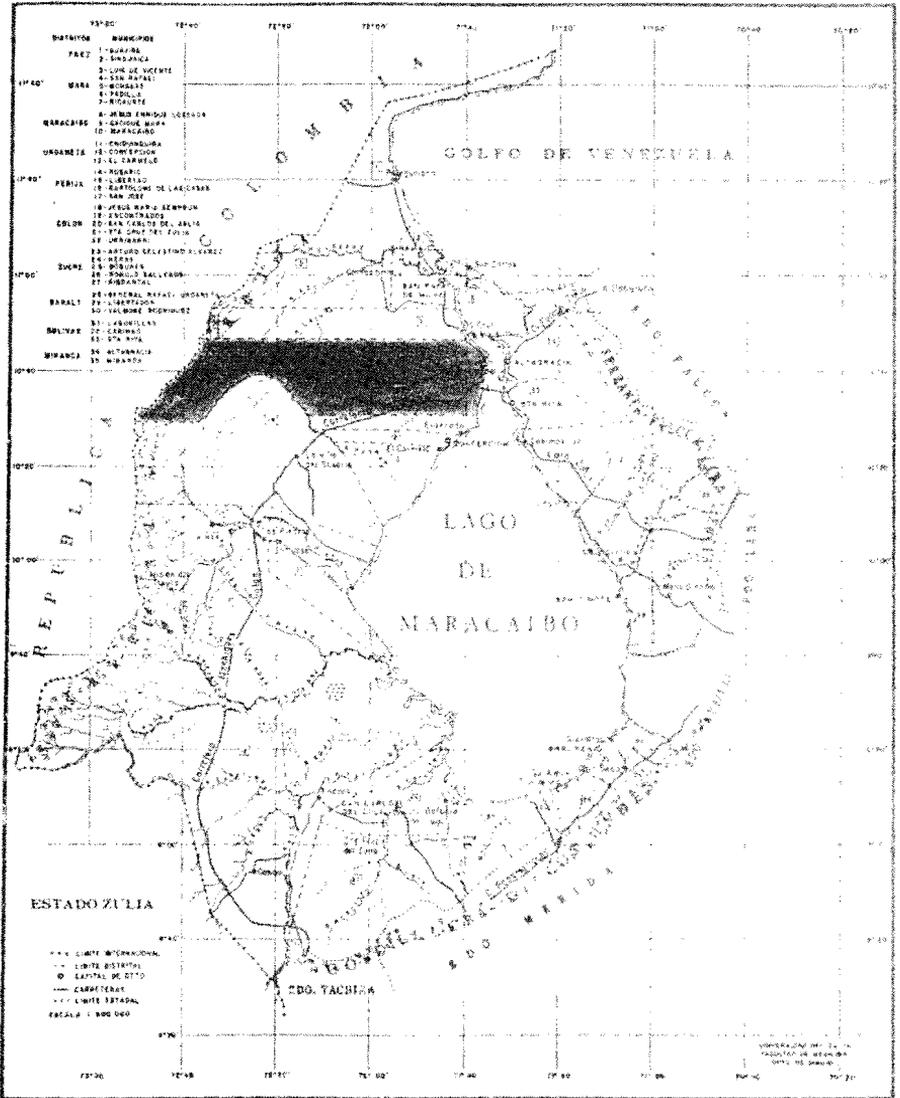
En las heces del redúvido fueron encontradas formas amastigotas, epimastigotas y tripomastigotas (Figuras 5, 6 y 7).

Los 23 ratones inoculados (100 %) con la cepa aislada adquirieron la infección, seis murieron antes del sexto mes, uno fue sacrificado y los demás pasaron a la fase crónica. La tasa de letalidad fue 27,27 % .

Los ratones muertos presentaron nidos leishmánicos o formas amastigotas de *Trypanosoma cruzi* en los cortes histológicos del miocardio (Figura 8).

FIGURA N° 3

Situación relativa regional por distrito, de un foco de *Trypanosoma cruzi*.



DISTRITO MARACAIBO.

F. de I. Ministerio de Obras Públicas. Dirección de Cartografía Nacional.

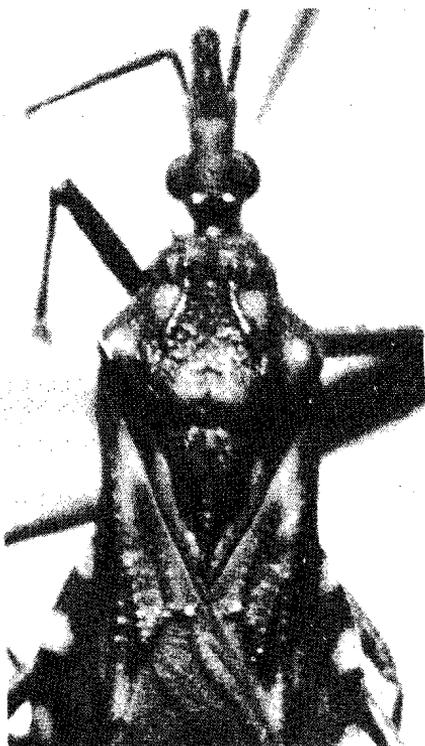


Figura N° 4. *Triatoma Maculata* adulto capturado en casa del barrio Corito, Municipio Cristo de Aranza, Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela.

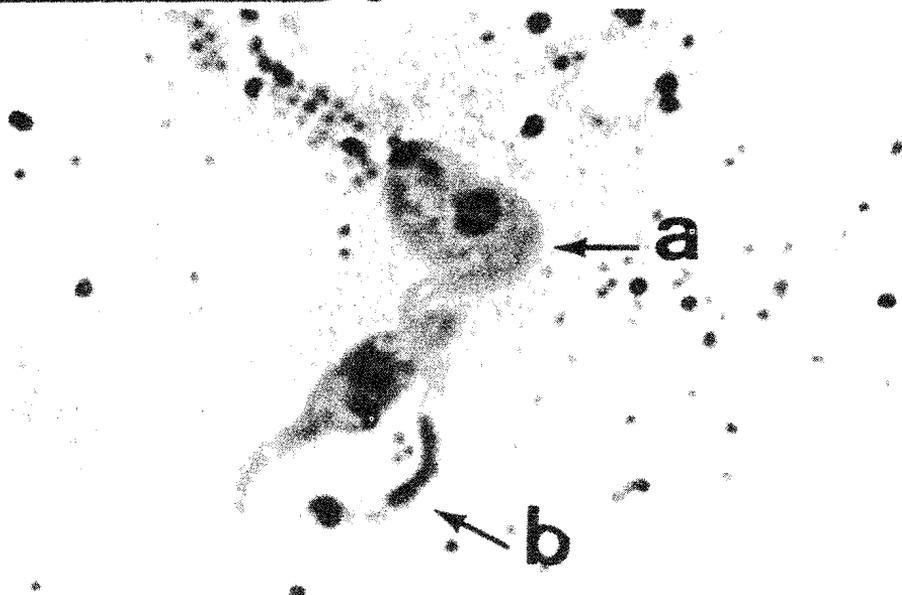


Figura N° 5. *Trypanosoma cruzi* en heces de *Triatoma maculata*. a: Forma amastigota. b: Forma tripomastigota.

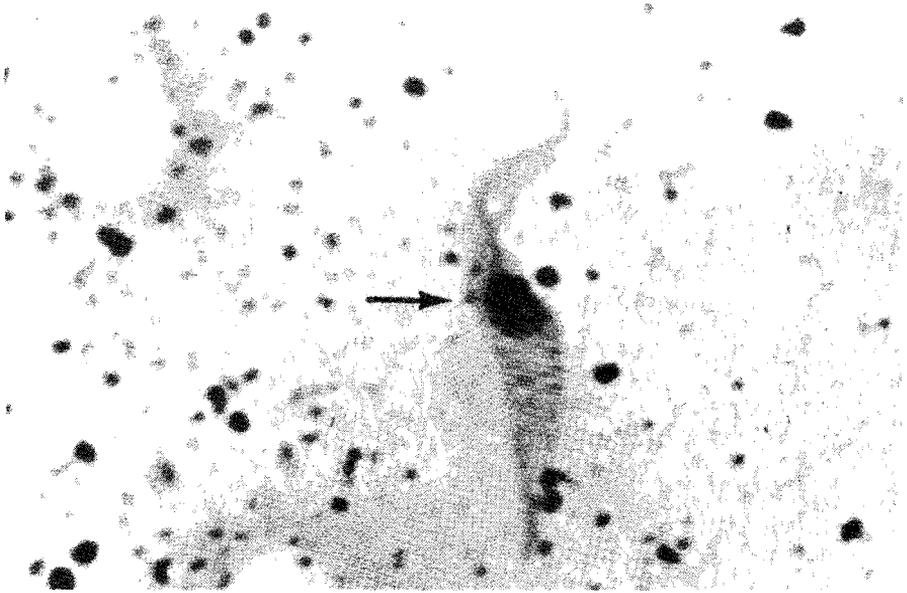


Figura N° 6. Forma epimastigota de *Trypanosoma cruzi* en heces de *Triatoma maculata*.

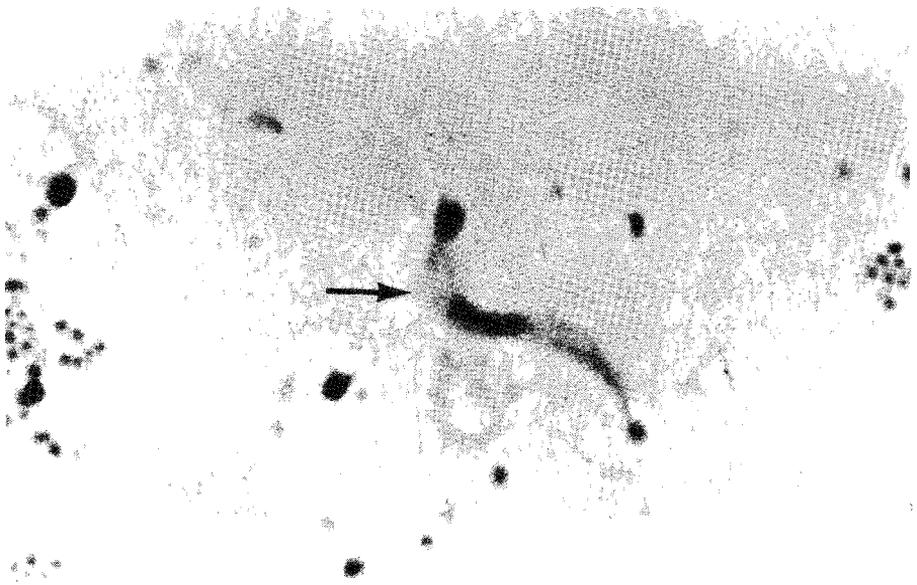


Figura N° 7. Forma tripomastigota metacíclico de *Trypanosoma cruzi* en heces de *Triatoma maculata*.

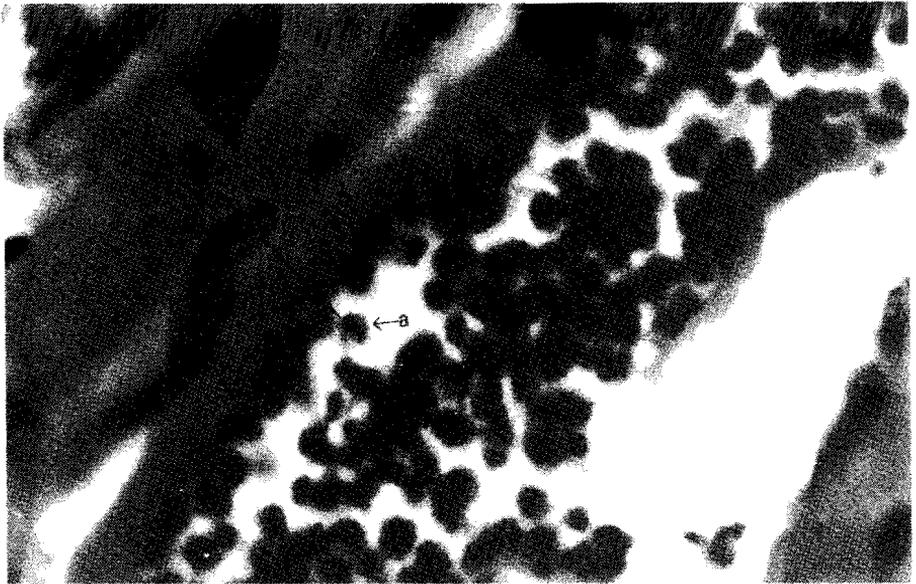


Figura N° 8. Nido leishmánico en Miocardio de ratones inoculados con la cepa de *Trypanosoma cruzi* aislada. a: Forma amastigota.

En sangre de ratón las formas observadas fueron siempre tripomastigotas, en forma C o S, cinetoplasto redondeado, grande de situación terminal o subterminal, membrana ondulante con escasas ondulaciones, núcleo redondeado u ovoide de situación central o más cerca de la extremidad anterior (Figura 9).

La longitud total de las formas tripomastigotas observadas en sangre osciló entre 12 y 23 micras con promedio de  $16,26 \pm 3,35$  micras (Figura 10). El índice nuclear medio fue de  $1,10 \pm 0,2$  (Tabla 1). Los 40 ejemplares de *Rhodnius prolixus* alimentados con sangre de los ratones infectados con la cepa aislada, adquirieron la infección observándose a los 30 días abundantes formas evolutivas en las heces, semejantes a las observadas en el ejemplar de *Triatoma maculata*.

El período prepatente en los ratones inoculados con la cepa aislada varió entre 6 y 29 días, con promedio de 15 días (Tabla 2).

La parasitemia máxima se presentó entre 19 y 65 días, con promedio de 42 días después de la inoculación. El número de parásitos osciló entre 63 y 2.660 por  $\text{mm}^3$  con cifras que sólo en el 26% de los casos fue mayor de 1.000 parásitos por  $\text{mm}^3$  (Tabla 2). Como puede apreciarse en la Figura 10), las curvas parasitémicas mostraron ciertas variaciones individuales adoptando cinco tipos de curvas:

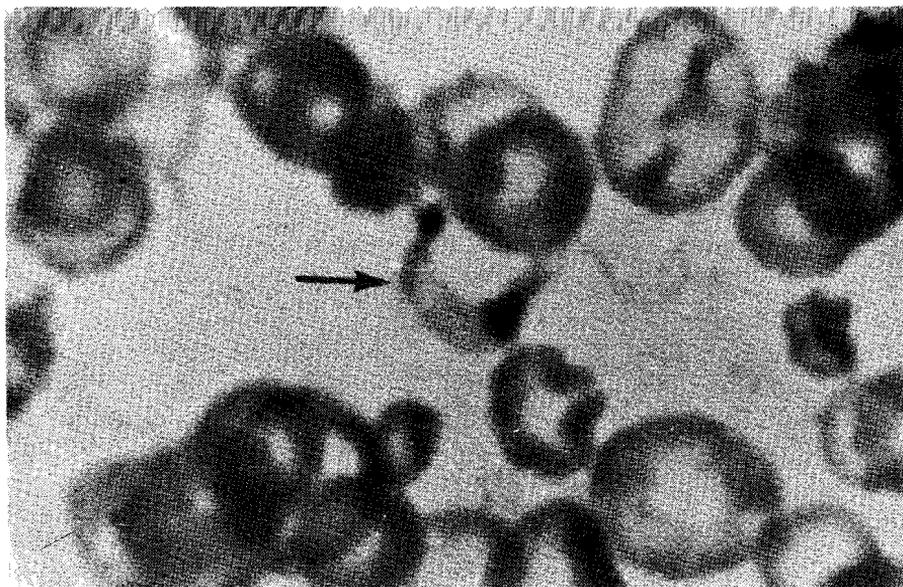


Figura N° 9. *Trypanosoma cruzi* en sangre de ratón.

TABLA N° 1

*Trypanosoma cruzi* en sangre de ratón.  
Biometría promedio sobre 45 tripanosomas medidos.

MEDIDAS	micras PROMEDIO
Distancia N P	7,20
Distancia N A	5,62
Longitud del flagelo	4,51
Longitud total	16,26
Anchura	2,05
Diámetro del Cinetoplasto	1,61
Índice nuclear	1,10

a) Ascenso regular hasta alcanzar el acmé parasitario y descenso con algunas irregularidades (R-2).

b) Ascenso regular y caída brusca (R-5).



Figura N° 10. *Trypanosoma cruzi* en sangre de ratón. Dibujos en cámara clara.

- c) Ascenso irregular con caída brusca (R-3).
- d) Ascenso y descenso con irregularidades (R-1) (R-13).
- e) Curvas irregulares con niveles parasitémicos bajos (R-9).

TABLA N° 2

Evolución de la infección en ratones inoculados con una cepa de *Trypanosoma cruzi* aislada de *Triatoma maculata* capturado en Barrio Corito, Municipio Cristo de Aranza, Distrito Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela.

Ratón N°	Período Prepatente Días	Parasitemia Máxima Formas x mm <sup>3</sup> Días		Observaciones
1	12	1.505	47	Murió a los 4 meses 19 días.
2	9	1.449	33	Sacrificado.
3	17	1.169	31	Murió a los 41 días
4	13	210	27	Murió a los 5 meses 22 días.
5	21	875	36	Sobrevivió
6	15	280	36	Sobrevivió
7	15	231	36	Sobrevivió
8	29	119	65	Murió a los 2 meses 6 días.
9	27	63	35	Murió a los 3 meses 17 días
10	16	84	42	Sobrevivió
11	16	581	63	Sobrevivió
13	12	1.169	63	Sobrevivió
14	16	490	63	Sobrevivió
15	12	2.660	63	Murió a los 2 meses 22 días
16	19	700	63	Sobrevivió
17	13	735	40	Sobrevivió
18	13	686	35	Sobrevivió
19	18	728	35	Sobrevivió
20	13	910	35	Sobrevivió
21	13	287	40	Sobrevivió
22	6	441	37	Sobrevivió
23	6	1.036	19	Sobrevivió

La parasitemia máxima disminuyó con la secuencia de los repiques con sangre, tal como se aprecia en la (Figura 11). Los ratones N° 1 y 2 fueron inoculados intraperitonealmente con heces de *Triatoma maculata*; al realizar repiques con sangre en los ratones N° 3-5 y 9 se presentó descenso de las curvas parasitémicas, hasta tal punto que temerosos de que la cepa se perdiera la aislamos en triatominos, e inoculamos nuevos ratones con heces obteniendo parasitemias razonables que nos permitieron completar nuestras investigaciones.

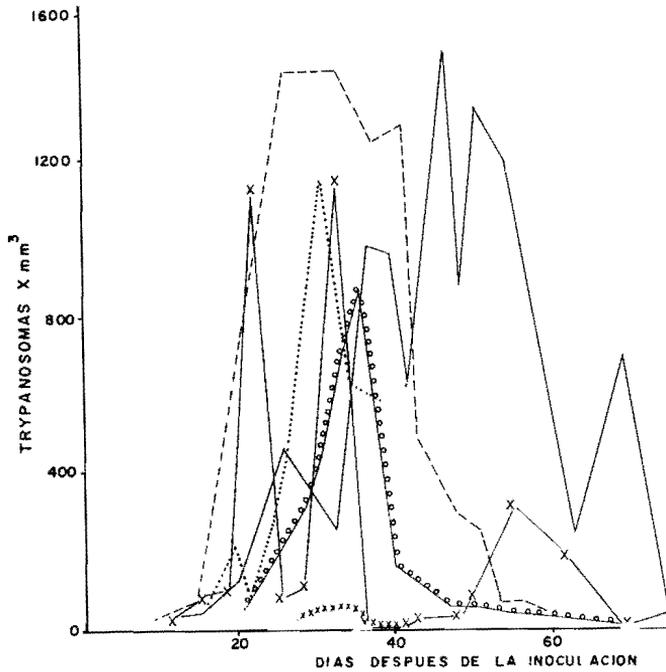


Figura N° 11. Tipos de curvas parasitémicas observadas en ratones blancos inoculados con cepa de *Trypanosoma cruzi*.

Con la prueba de inmunidad cruzada todos los ratones libres de infección murieron (100%), en cambio los que estaban en fase crónica sobrevivieron (100%).

## DISCUSION

Barretto (7) señala que para la identificación de un tripanosoma como *Trypanosoma cruzi* deben ser tomados en consideración los siguientes elementos:

- Semejanza morfológica.
- Coincidencia de datos biométricos particularmente la longitud total media e índice nuclear medio.
- Cultivo en medios conteniendo agar-sangre.
- Evolución en el tubo digestivo de triatomos con el desarrollo de tripanosomas metacíclicos en el intestino posterior.

– Capacidad de infectar a animales de laboratorio (ratas y ratones jóvenes).  
– Multiplicación con formas de leishmania en tejidos del huésped vertebrado infectado natural o experimentalmente.

– Desarrollo de inmunidad contra muestra virulenta de origen humana.

La longitud total media y el índice nuclear medio del parásito constituyen los datos biométricos de mayor importancia para la identificación de *Trypanosoma cruzi* como agente etiológico de la enfermedad de Chagas (7) (27).

Los investigadores en diversas épocas y en diferentes países americanos, han procurado identificar reservorios y dilucidar el papel que desempeñan en la epidemiología de la enfermedad de Chagas. Como consecuencia de estas investigaciones, se verificó la presencia de *Trypanosoma cruzi* y de tripanosomas semejantes, en un gran número de mamíferos domésticos y silvestres.

Según Ferriolli (27) las variaciones de los datos biométricos de cepas de *Trypanosoma cruzi* han sido demostradas por diferentes investigadores quienes reportan variaciones de longitud total entre 17,5 y 25 micras con media de 21 micras; 17,3 y 22 micras y 17,4 y 21,7 micras.

El mismo autor en estudio biométrico de 10 muestras de *Trypanosoma cruzi* aisladas de casos humanos de enfermedad de Chagas reporta: longitud total media entre 16,3 y 21,8 micras; e índice nuclear medio entre 0,93 y 1,50. En el curso de sus investigaciones sobre reservorios silvestres de *Trypanosoma cruzi* ha notado variaciones muchas veces grandes de datos biométricos, en particular la longitud total media y el índice nuclear medio, no sólo en huéspedes diferentes sino también en ejemplares diversos de una determinada especie, lo cual confirma las observaciones de otros autores.

Barretto (9) discute la validez de las especies identificadas como *Trypanosoma cruzi* o semejantes hasta 1970, y llega a las siguientes conclusiones: 1.- *Trypanosoma vespertilionis* Battaglia, 1904 y *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 son especies válidas.

2. *Trypanosoma phyllostomae* Cartaya, 1910, *Trypanosoma akodoni* Carini y Maciel, 1915, “una muestra hastatus” de Días 1940, *Trypanosoma sanmartin* Garnham y González, 1962 y *Trypanosoma deani* Coutinho y Pattolli, 1964 son sinónimos de *Trypanosoma cruzi*.

3. *Trypanosoma prowazeki* Berenberg-Gossler 1908, *Trypanosoma lineatus* Iturbe y González, 1916 y *Trypanosoma lesourdi* Leger y Porry, 1918 son especies en investigación. *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma vespertilionis* son distintos por los caracteres biométricos, biológicos y por la acción patógena para animales de laboratorio; en efecto *Trypanosoma vespertilionis* tiene una longitud total media variable entre 12,2 y 16,9 micras e índice nuclear medio entre 2,39 y 3,29. El mismo autor refiere que además *Trypanosoma vespertilionis* evoluciona mal o no se desarrolló en triatomos y no es patógeno para animales de laboratorio.

Mello y cols. (36) aislaron de *Triatoma costalimai* una cepa de *Trypanosoma cruzi* y obtuvieron los siguientes datos biométricos longitud total  $16,4 \pm 1,1$  micras e índice nuclear 1,3. Basso y cols (10) determinaron longitud total de 21.14 micras e índice nuclear de 1,08 en una cepa de *Trypanosoma cruzi* aislada de un roedor (*Akodon dolores*).

Torres (61) señala que las formas tripomastigotas de la cepa de *Trypanosoma cruzi* aislada de *Triatoma maculata*, tenían una longitud total que osciló entre 13,9 y 23,3 micras, con promedio de 18,5 micras y el índice nuclear promedio de 1,2.

Perruolo (40) aisló una cepa de *Trypanosoma cruzi* de ejemplares de *Sciurus (Guerlinguetus) granatensis* ssp (ardilla), y el estudio biométrico de los tripanosomas en frotis de sangre periférica dio una longitud total media de 20,2 micras (cepa ardilla I) y 17,6 micras (cepa ardilla II) con un índice nuclear de 1,31 y 1,27 respectivamente. En cepa de *Trypanosoma cruzi* aislada por el mismo autor (41) en *Didelphis marsupialis* y *Philander opossum*, el estudio biométrico dio una longitud total media de 11,5 a 31,1 micras con índice nuclear medio de 0,6. Albuquerque y cols (1) aislaron muestra de *Trypanosoma cruzi* a través de xenodiagnóstico de un mono (*Callicebus nigrifrons* Spix, 1823), las formas sanguíneas midieron 20,72 micras de longitud total media e índice nuclear medio de 1,36.

Funayama y cols (31) aislaron de heces de *Triatoma infestans* una cepa de *Trypanosoma cruzi*, las formas tripomastigotas en sangre de ratón midieron 23,37 micras de longitud total media y presentaron índice nuclear medio de 0,94.

Albuquerque y cols (2) mediante xenodiagnóstico de mono (*Callithrix argentata melanura* Geoffroy, 1812) aislaron una muestra de *Trypanosoma cruzi*; las formas sanguíneas midieron 18,97 micras de longitud total media e índice nuclear de 1,33. Ferriolli y cols (28) aíslan una muestra de *Trypanosoma cruzi* de un roedor (*Galictus cuja furax* Thomas, 1907), las formas sanguíneas tenían una longitud total media de  $22,42 \pm 3,36$  micras e índice nuclear medio de 1,37.

Funayama y cols (30) apreciaron longitud total media de 25,71 micras e índice nuclear medio de 1,25 en formas sanguíneas de una muestra de *Trypanosoma cruzi* aislada mediante xenodiagnóstico de un mono (*Alouatta caraya* Humboldt, 1812).

Neto (39) demostró que no había correlación estrecha entre los caracteres morfológicos, biológicos y patogénicos de diversas muestras estudiadas de *Trypanosoma cruzi* aislada de casos humanos de la enfermedad de Chagas.

En nuestro trabajo hemos aislado una cepa de *Trypanosoma* del contenido intestinal de *Triatoma maculata* que tiene semejanza morfológica con *Trypanosoma cruzi*. La forma tripomastigota en sangre de ratón tiene una longitud total media de  $16,26 \pm 3,35$  micras y el índice nuclear medio es de  $1,10 \pm 0,2$ .

Estos datos se sitúan dentro de los límites de variaciones que han sido encontrados por los diferentes autores ya mencionados, que estudiaron muestras de *Trypanosoma cruzi* tanto de origen humano como animal.

La mayoría de muestras de flagelados de origen animal y semejantes a *Trypanosoma cruzi* se desarrollan en triatominos.

Barretto y col. (4) trabajando con muestras aisladas de *Luttreolina crassicaudata crassicaudata* consiguieron infectar a *Triatoma infestans* y a *Triatoma sórdida* pero no obtuvieron resultados positivos en las tentativas hechas con *Rhodnius prolixus*. Por otro lado, esta diferencia de susceptibilidad ocurre también entre muestras de *Trypanosoma cruzi* de procedencia humana (7). La muestra Y mantenida en ratones por repiques de sangre parece no desarrollarse tan bien en *Triatoma infestans*, como en *Triatoma sórdida* y sobre todo en *Panstrongylus megistus* (7).

La cepa de *Trypanosoma* aislada por nosotros evolucionó en los 40 ejemplares de *Rhodnius prolixus* alimentados con sangre de ratones infectados, observándose en heces abundantes formas amastigotas, epimastigotas y tripomastigotas lo cual confirma la susceptibilidad de este triatomo a la cepa.

En general se afirma que muestras provenientes de animales silvestres son menos patógenas para animales de laboratorio, que las muestras aisladas del hombre pero la verdad es que existen numerosas excepciones (7).

Según Barretto (7) los datos aportados por los diversos autores no son siempre comparables, en virtud de la diversidad de conclusiones y la diferencia de criterios en la evaluación de los resultados, e incluso trabajando en condiciones ideales se observa gran variabilidad entre muestras aisladas de diferentes especies de huéspedes. Barretto (7) al estudiar una cepa de *Trypanosoma cruzi* aislada de *Luttreolina crassicaudata crassicaudata*, observó en ratones infectados baja parasitemia, con una tasa de letalidad relativamente alta.

La muestra aislada por Correa y col. citado por Barretto (7) de *Marmosa agilis agilis*, produjo infecciones con parasitemias más elevadas (en algunos animales pasando de 2.000 flagelados por  $\text{mm}^3$ ) no mortales para ratones.

Una muestra aislada de puerco espín (*Coendus villosus*) por Siqueira y col. referido por Barretto (7) produjo infecciones con parasitemia muy elevada y moderada tasa de letalidad.

Corsini (15) señala que la letalidad de una cepa de *Trypanosoma cruzi* no está en relación con la intensidad de la parasitemia, ya que en sus investigaciones con cepa se produjo la mortalidad de todos los ratones, con inóculos de  $10^5$  parásitos, a pesar de que la parasitemia sólo se incrementó en 600 por  $\text{mm}^3$ . Inóculos de  $10^4$  y  $10^3$  parásitos determinaron una letalidad del 50% y 0% respectivamente. Trischman y cols., citados por Corsini (15) no encuentran relación directa entre el número de parásitos en sangre periférica y la muerte de los animales de experimentación.

Por otro lado, la especie de animal de laboratorio usada es de importancia. Muestras aisladas de *Didelphis aurita*, *Didelphis azarae*, *Lutreolina crassicaudata*, *Marmosa agilis agilis*, *Rattus rattus*, *Akodon arviculoides cursor*, *Calveia aperea azarae*, *Coendus villosus* y *Cebus apella* son capaces de infectar ratas blancas jóvenes pero no todas infectan a ratones jóvenes (7). Entre muestras diversas aisladas de la misma especie hay variaciones grandes, así por ejemplo: muestra aislada de armadillo (*Dasyus novemcinctus*) y estudiada por Villela-Torres y Campos, citados por Barretto (7) es altamente virulenta para animales de laboratorio, mientras que otras aisladas por Rodríguez y Mello referidas por el mismo autor se comportan de manera opuesta. Es lo que acontece con tripanosomas de marsupiales, algunas muestras infectan ratones, otras infectan indiferentemente ratones y ratas y otras sólo consiguen infectar ratas (7).

Finalmente, una determinada muestra cuando es inoculada en lotes de animales de la misma especie puede variar su virulencia. Resultados diferentes pueden observarse principalmente en lo que respecta a la duración del período prepatente o, al grado de parasitemia y la duración de la fase aguda, cuando se usan tipos y dosis de inóculos diferentes.

En general, las infecciones resultantes de tripanosomas metacíclicos tienen períodos prepatentes más largos, y son más benignas que las resultantes de la inoculación de formas sanguíneas como muestran los resultados de investigaciones de Barretto en marsupiales (7); sin embargo lo contrario también puede acontecer, así, la muestra aislada de *Rattus rattus* por Ferriolli y Barretto (26) se muestra más agresiva para ratas blancas cuando se usa como inóculo heces de triatomino. En nuestro estudio se puso en evidencia las aseveraciones de los autores mencionados (26). Nosotros logramos infectar con la cepa aislada todos los ratones blancos (*Mus musculus*) inoculados, observando formas tripomastigotas en sangre con la morfología típica de *Trypanosoma cruzi* y datos biométricos entre los límites de variaciones encontrados por los diferentes autores que han estudiado muestras de *Trypanosoma cruzi*.

Además el parásito se multiplicó en forma amastigota en el miocardio de los ratones, lo cual fue demostrado al realizar cortes histológicos coloreados con hematoxilina eosina y observados al microscopio óptico.

La presencia de nidos leishmánicos o de formas amastigotas de *Trypanosoma cruzi* en los tejidos del huésped vertebrado es considerado como elemento indispensable para la identificación de un tripanosoma como *Trypanosoma cruzi* (7). Aunque la patogenicidad para animales de laboratorio sea un carácter común a todas las muestras de *Trypanosoma cruzi* estudiadas, este carácter es variable, por esto se debe tener cuidado al emitir conclusiones de los resultados de inoculaciones experimentales con muestras aisladas de animales silvestres.

*Trypanosoma cruzi* confiere a los ratones inmunidad contra una reinfección, diversos autores han demostrado que esta protección es eficaz en los casos de reinoculaciones con muestras altamente virulentas como lo señalan Silva y Nussenzweig (52) y Brener referido por Ferrioli (25), en trabajos realizados con la cepa Y. Nosotros hemos demostrado el desarrollo de inmunidad en los ratones en fase crónica al utilizar una muestra virulenta de origen humano.

## CONCLUSIONES

— Al analizar los resultados obtenidos del estudio de la cepa de *Trypanosoma* aislada a partir del contenido intestinal de *Triatoma maculata* capturado en Barrio Corito, Haticos por arriba, Municipio Cristo de Aranza— Maracaibo; y compararlos con los elementos señalados por Barretto (7) se puede concluir que estamos en presencia de una cepa de *Trypanosoma cruzi*.

— La presencia de *Triatoma maculata* infectado es una evidencia del riesgo que corren los pobladores de esa zona y de las circunvecinas con características semejantes a la estudiada y en donde están presentes todos los elementos de la cadena epidemiológica: Hombre - Reservorio - Transmisor.

— La tendencia de *Triatoma maculata* a la domiciliariad y la probable zoonofilia hacen pensar que los humanos y animales domésticos de la zona pudieran estar parasitados por *Trypanosoma cruzi*. Por lo cual se debe alertar a las autoridades sanitarias regionales sobre la importancia epidemiológica de este hallazgo.

En los países con limitado presupuesto de salud a los cuales no se les da prioridad para el control de la enfermedad de Chagas, es muy útil determinar en primer lugar la trascendencia del problema por medio de evaluaciones entomológicas más que muestreando la población humana; un enfoque entomológico será menos caro y sin embargo sustancialmente clarificador acerca de la transmisión que ocurre en la población humana y proporcionará la necesaria información básica para el control de los vectores.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 ALBUQUERQUE, R. D. R. y BARRETTO, M. P. Estudos sobre reservatorios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXXII. Infecção natural do simio, *Callicebus nigrifrons* (Spix, 1823) pelo *Trypanosoma cruzi*. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 11 (2): 115-122. 1969.
- 2 ALBUQUERQUE, R.D.R. y BARRETTO, M. P. Estudos sobre reservatorios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XL. Infecção natural do simio, *Callithrix argentata melanura* (Geoffroy, 1812) pelo *Trypanosoma cruzi*. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 12 (12): 121-128. 1970.
- 3 BARRETTO, M. P. y FERRIOLLI F., F. Estudos sobre reservatorios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. VIII. Observacoes sobre a infecção experimental de gambas por *Trypanosoma* isolados de estes animais. *Revista Brasileira de Biología* 25 (1): 35-47. 1955.
- 4 BARRETO, M. P. e SIQUEIRA, A. F. Infecção natural de *Lutreolina crassicaudata* pelo *Trypanosoma cruzi*. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 4 (6) 358-365. 1962.
- 5 BARRETTO, M. P. y FERRIOLLI F., F. Estudos sobre reservatorios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. IV Infecção natural do *Triatoma infestans*, encontrado em ecotopos silvestres, por *Tripanossomos* semelhantes ao *Trypanosoma cruzi*. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 6 (5): 219-224. 1964.
- 6 BARRETTO, M. P. Reservatoios do *Trypanosoma cruzi* nas Americas. *Revista Brasileira de Malariologia e Doencas Tropicais*. 16 (4): 527-552. 1964.
- 7 BARRETTO, M. P. *Tripanossomos* semelhantes ao *Trypanosoma cruzi* em animais silvestres e sua identificação com o agente etiológico da doença de Chagas. *Revista del Instituto de Medicina de Sao Paulo*. 7 (5): 305-315. 1965.
- 8 BARRETTO, M. P.; SIQUEIRA, A. F.; FERRIOLLI F., F.; CARVALHEIRO, J. R.; ALBUQUERQUE, R. D. R. y FUNAYAMA, G. K. Estudos sobre reservatorios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXVIII. Infecção natural de quirópteros pelo *Trypanosoma vespertilionis* Battaglia, 1904. *Revista Brasileira de Biología*. 28: 147-155. 1968.
- 9 BARRETTO, M. P. Estudos sobre reservatorios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi* XLIII. Sobre a validade das especies americanas de flagelados incluídos no subgénero *Schizotrypanum* Chagas, 1909 do género *Trypanosoma* Gruby, 1843. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 12: 272-278. 1970.
- 10 BASSO B; MORETTI E.; ALBESA I; ERASO A.; KRAVETZ F. y D' ALESSANDRO A. Infecção natural de *Akodon dolores* Thomas, 1916 (Rodentia, cricetidae) por *Trypanosoma cruzi*. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 24 (1): 21-26. 1982.
- 11 CARCAVALLO, R. U.; TONN, R. J. y CARRASQUERO, B. Distribución de triatominos en Venezuela (Heméptera, Reduviidae). Actualización por entidades e zonas biogeográficas. *Boletín de la Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental*. 27 (1): 53-65. 1977.
12. CARCAVALLO R. U. Ecología humana y enfermedad de Chagas. *Boletín de la Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental*. 18 (4): 248-258. 1978.

13. CARCAVALLO, R. U. Ecología humana y enfermedad de Chagas. II. Factores abióticos del ambiente. *Boletín de la Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental* 19 (2): 39-43.
14. Compilación de Leyes y Decretos orgánicos del Estado Zulia. 1965. 500p.
15. CORSINI A. C.; COSTA M. G.; OLIVEIRA, O. L. P.; CAMARGO, I. J. B. y Stelini J. R., A. Susceptibility of inbred mice to *Trypanosoma cruzi* strain Y. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 22: 192-196. 1980.
16. COVA G., P. Principios generales de Entomología. Fundación Venezolana para la Salud y la Educación. Caracas-Venezuela. 1974. 466p.
17. DAO, L. Otros casos de enfermedad de Chagas en el Estado Guárico (Venezuela). Observación sobre enfermedad de Chagas congénita. *Revista Policlínica de Caracas*. 18: 17. 1949.
18. DEANE, L. M. Animal reservoirs of *Trypanosoma cruzi* in Brazil. *Revista Brasileira de Malariología e Doenças Tropicais*. 16 (1): 27-48. 1964.
19. DEANE, L. M. Tripanosomídeos de mamíferos da região Amazônica. III. Hemoscopia e xenodiagnóstico de animais silvestres dos arredores de Belem Para. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 6: 225-232. 1964.
20. DIAS, E. e FREITAS, F. Introducao ao estudo biométrico dos hemoflagelados do género *Schizotrypanum*. I. Introducao, material e métodos. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*. 38 (3): 427-436. 1943.
21. DIAZ-UNGRÍA, C. La Contaminación por vía buco-gástrica y ocular en los tripanosomas. *Separata de la Revista de la Universidad del Zulia*. 41: 45-75 1968.
22. DIAZ V., A. Enfermedad de Chagas. Publicaciones de la Dirección de Cultura de la Universidad de los Andes. 2a. Ed. Mérida. 1975. 172p.
23. Enfermedad de Chagas en Venezuela. 1981. *Boletín del Departamento de Medicina Preventiva y Social U. C. V.* Facultad de Medicina. Escuela de Medicina "Dr. José María Vargas": 16 (3-4): 31. 1982.
24. FERRIOLLI F., F. e BARRETTO, M. P. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XIV. Infecção natural da *Prea cavia aperea aperea* por tripanossomo semelhante ao *Trypanosoma cruzi*. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 8 (6): 267-276. 1962.
25. FERRIOLLI F., F. e BARRETTO, M. P. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. VI. Infecção natural do roedor *Akodon arviculoides cursor* (wingé 1885) por tripanossomo semelhante ao *Trypanosoma cruzi*. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 7 (2): 72-81. 1965.
26. FERRIOLLI F., F. e BARRETTO, M. P. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi* IX. Infecção natural do *Rattus rattus* (Lin., 1758) por tripanossomo semelhante ao *Trypanosoma cruzi*. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 7 (3): 169-179. 1965.
27. FERRIOLLI F., F.; BARRETO, M. P. e CARVALHEIRO, J. Estudo sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi* XXV. Variação dos dados biométricos obtinidos em amostras do *Trypanosoma cruzi* isoladas de casos humanos da Doença de Chagas. *Revista de la Sociedad Brasileira de Medicina Tropical*. 2 (1): 1-8 1968.
28. FERRIOLLI F., F. e BARRETTO, M. P. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXXV. Infecção natural do furao, *Galactis cuja furax* (Thomas, 1907) pelo *Trypanosoma cruzi*. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 11 (4): 264-273. 1969.

- 29 FREITAS, J. L. P. de. Primeras verificaciones de transmisión accidental de la enfermedad de Chagas al hombre por transfusión de sangre. *Revista Paulista de Medicina*. 40 (1): 36-40. 1952
- 30 FUNAYAMA, G. K. y BARRETTO, M. P. Estudios sobre reservorios y vectores silvestres de *Trypanosoma cruzi*. XLII. Infección natural del simio, *Alouatta caraya* (Humboldt, 1812) pelo *Trypanosoma cruzi*. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 12 (4): 257-265. 1970.
- 31 FUNAYAMA, G. K. e Prado Jr., J. C. Estudio de los caracteres de una muestra boliviana de *Trypanosoma cruzi*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 8 (2): 75-81. 1974.
- 32 GAVALLER, B. de. La enfermedad de Chagas congénita. Observación anatomopatológica de dos gemelos. *Boletín de la Maternidad Concepción Palacios*. 4 (2): 59. 1953.
- 33 LOPEZ, E. R.; CHAPADEIRO, E.; OLIVEIRA, F. da C; ALONSO, M. T.; PEREIRA, F. E. L.; Almeida, H. de O. y Hial, W. Doença de Chagas e gravidez V. Estudio de 50 placentas de gestantes chagásicas crónicas. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 9 (6): 393-396. 1967.
- 34 LUGONES h.; LEDESMA O.; JOZAMI, L. B. de; MARTELEUR A. de; JOZAMI A.; PERALTA F.; JOZAMI J.; JOZAMI S.; COSTAS M.; AILAN M.; BARBIERI G.; BARBERO A. y Smith E. Enfermedad de Chagas en la embarazada y Chagas congénito. *Revista Argentina de Parasitología*. 1 (1): 48-51 1979.
- 35 MAEKELT, G. A. Contribución para el estudio de la enfermedad de Chagas en Venezuela. *Archivos Venezolanos de Medicina Tropical y Parasitología Médica*. 3 (1): 252-271. 1959.
- 36 MELLO D. A. y BORGES M. M. Primeiro encontro do *Triatoma costalimai* naturalmente infectado pelo *Trypanosoma cruzi*: Estudio de aspectos biológicos da muestra isolada. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*. 76 (1): 61-69. 1981.
- 37 Memoria y Cuenta. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. 1982. 567p.
- 38 MUYNCK A. de; GARRON A.; BERMUDEZ H.; ZUNA H.; ROMERO A.; ROMERO F.; GARCIA A.; PRADO J., QUEIROLO L. y RIBERO B. Estudio epidemiológico de la enfermedad de Chagas en Porongo, Departamento de Santa Cruz, Bolivia. *Boletín informativo de Cenetrop*. 4 (3-4): 88-97. 1978.
- 39 NETO F. B. Estudos sobre a existencia de correlação entre os dados biométricos e o grau de patogenicidade de amostras humanas do *Trypanosoma cruzi* Chagas 1909. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 8 (1): 27-36. 1974.
- 40 PERRUOLO L., G. J. Estudio de dos cepas de *T. cruzi* aisladas de ardilla *Sciurus (Guerringtoni) granatensis* ssp. Hershkovitz 1947, en una localidad del occidente de Venezuela. *Kasmera*. 5 (1): 121-140, 1974.
- 41 PERRUOLO L., G. J. Dípteros (Mammalia, marsupialia) como reservorios silvestres del *Trypanosoma cruzi* Chagas 1909, en la zona del Palmar Ramireño, Distrito Córdoba en el Estado Táchira, Venezuela. Primera comprobación. *Kasmera* 7 (1-4): 1-40 1979.
- 42 PIFANO C., F. Algunas investigaciones para el estudio de la esquizotripanosis americana o enfermedad de Chagas en los Valles de Yaracuy: resultados del xenodiagnóstico en infecciones experimentales humanas. *Publicación de la Asociación Médica de Yaracuy*. 1 (1): 3. 1938.
- 43 PIFANO C., F. Algunos aspectos de la enfermedad de Chagas en Venezuela. *Archivos Venezolanos de Patología Tropical y Parasitología Médica*. 3 (2): 73-99. 1960. En: *Gaceta Médica de Caracas*. 68 (1-3): 5-43. 1960.

- 44 PIFANO C., F. La enfermedad de Chagas y sus problemas. *Archivos Venezolanos de Patología Tropical y Parasitología Médica*. 3 (2): 101-106. 1960.
- 45 PIFANO C., F. La enfermedad de Chagas en Venezuela y sus problemas. *Separata del Boletín de la Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales*. 33 (98): 3-24. 1973.
- 46 PELLEGRINO, J. Transmisão da doença de Chagas pela transfusão de sangue. Primeiras comprovações serológicas em doadores e em candidatos a doadores de sangue. *Revista Brasileira de Medicina*. 6 (5): 297-301. 1953.
- 47 PIZZI T. Inmunología de la enfermedad de Chagas. Santiago. Universidad de Chile. *Colección de monografías biológicas de la Universidad de Chile*. (7). 1957.
- 48 RUBIANO H., H. Reservorios selváticos de *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma rangeli* en algunas regiones del Estado Zulia. Venezuela. Tesis Doctoral presentada ante la Universidad del Zulia para optar al título de Doctor en Ciencias Médicas. 1982.
- 49 RUBIO, M.; EBENSBERGER, I.; HOWARD, J.; KNIERIM, F. y NAQUIRA, F. Búsqueda de enfermedad de Chagas en 100 madres de prematuros con hallazgo de un caso de enfermedad de Chagas congénita. *Boletín Chileno de Parasitología*. 17 (1): 13. 1962.
- 50 Rubio, M. "Compromiso del esfago en dos casos de Chagas congénito". *Boletín Chileno de Parasitología*. 23 (3-4): 157. 1968.
- 51 SALAZAR, J.; ARENDS, T.; MAEKELT, G. A. Comprobación en Venezuela de la transmisión de *Schizotrypanum* por transfusión de sangre. *Archivos Venezolanos de Medicina Tropical y Parasitología Médica*. 4 (4): 355-363. 1962.
- 52 SILVA, L. H. P. e NUSSENZWEIG, V. Sobre una cepa de *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para o camundongo branco. *Separata de folia Clin. e Biol*. 20 (3): 191-208. 1953.
- 53 SIQUEIRA, A. F.; FERRIOLLI F., F. y BARRETTO, M. P. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi* XVI. Infecção natural do ourico, *Coendus insidiosus* insidiosus (kuhl, 1820) por tripanosomo semelhante ao *Trypanosoma cruzi*. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 9: 155-162. 1968.
- 54 SOTO, S.T. de *Didelphis marsupialis*, Linnaeus 1758, su importancia como reservorio del *Trypanosoma cruzi* en la región de Zipayare (Estado Zulia-Venezuela) *Kasmera* 4 (1): 5-44. 1971.
- 55 TAFURI, W. L.; REIS LOPES, E. y NUNAN, B. "Doença de Chagas congénita. Estudo clínico patológico de um caso com sobre vida de seis meses. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 15 (5): 322-330. 1973.
- 56 TEJERA E. El primer caso de Tripanosomosis Americana en el Estado Miranda. *Gaceta Médica de Caracas*. 26 (11): 113. 1917.
- 57 TERRUEL, J. R. y NOGUEIRA, J. L. Perdas fetais em área de alta prevalencia de molestia de Chagas crónica. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 12 (14): 239-244. 1970.
- 58 TONN, R. J.; HUBSCH, R. de; SUKERMAN E.; TORREALBA, J. W. y CARRASQUERO, B. Estudio epidemiológico sobre la enfermedad de Chagas en ocho centros poblados del Estado Cojedes. Venezuela. *Boletín de la Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental*. 18 (1): 3-15. 1978.
- 59 TONN R. J.; OTERO M. A.; MORA E.; ESPINOLA H. y CARCAVALLO R. U. Aspectos biológicos, ecológicos y distribución geográfica de *Triatoma maculata* (Erichson 1848) (Hemiptera, Reduviidae) en Venezuela. *Boletín de la Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental*. 18 (1): 16-24. 1978.

60 TORREALBA, J. F. El primer caso de Tripanosomosis Americana diagnosticado en el Estado Guárico por el examen directo de sangre. *Gaceta Médica de Caracas*. 41 (18): 275. 1934.

61 TORRES, R. A. Sobre un foco urbano de *Trypanosoma cruzi* Chagas 1909 en la ciudad de Maracaibo-Venezuela. *Kasmera*: en imprenta. 1981.