

**SOBRE UN FOCO URBANO
DE *TRYPANOSOMA CRUZI* (CHAGAS, 1909)
EN LA CIUDAD DE MARACAIBO, VENEZUELA**

Dr. Reyes Alirio Torres*

RESUMEN

400 ejemplares de *Triatoma maculata* fueron capturados en el barrio Cerros de Marín en plena zona urbana de la ciudad de Maracaibo; 12% de ellos presentaron en su contenido intestinal formas evolutivas de un tripanosoma semejante a *Trypanosoma cruzi*. Material positivo fue inoculado intraperitonealmente a 20 ratones blancos (*Mus musculus*), adquiriendo todos la infección; 12 murieron antes del segundo mes y 8 pasaron a la fase crónica. Los ratones muertos presentaron en su totalidad lesiones cardíacas con abundantes formas amastigotas y los ratones que sobrevivieron adquirieron resistencia contra inoculaciones posteriores con una cepa virulenta de origen humano. El parásito creció en medios de cultivo a base de Agar-sangre (N.N.N y Davis)

Todas estas observaciones más los resultados de los datos biométricos permiten identificar al tripanosoma aislado como *Trypanosoma cruzi* de virulencia relativamente alta y considerar a Cerros de Marín como un foco urbano de *Trypanosoma cruzi*.

ABSTRACT

400 specimens of *Triatoma maculata* were captured at Cerros de Marín suburb in a broad urban area of Maracaibo city 12% of them had into their intestinal

*Profesor de la Cátedra de Parasitología - Facultad de Medicina - Universidad del Zulia - Maracaibo - Venezuela.

content evolutive forms of a tripanosome similar to *Trypanosoma cruzi*. Positive material was inoculated to 20 white mice (*Mus musculus*) and all of them were infected, 12 died before two months and 8 came into chronic phase. All of the dead mice had cardiac damage with abundant amastigote forms and the survived acquired resistance against later inoculations with a virulent human origen strain. The parasite grew in Blood-agar culture media (N.N.N and Davis). All these observations plus the results of biometric data, let us identify the isolated tripanosome like *Trypanosoma cruzi* with relative high virulence and to consider Cerros de Marin as a urban nest of *Trypanosoma cruzi*.

INTRODUCCION

Trypanosoma cruzi (Chagas, 1909) es un flagelado patógeno que produce la enfermedad de Chagas tanto al hombre como a una gran variedad de animales domésticos y silvestres (9) (10). La morfología es diferente según se observe en el huésped vertebrado, invertebrado o en cultivo; mientras que en el invertebrado y en los medios de cultivo se observan todas las formas evolutivas (15) (34), en el vertebrado se pueden encontrar formas amastigotas en los tejidos y formas tripomastigotas en la sangre (23) (24). Es transmitido en la naturaleza por insectos hemípteros de la familia Reduviidae para los cuales no es patógeno (2) (3) (6) (7); la transmisión se lleva a cabo por contaminación fecal. Está ampliamente distribuido en América y es fácilmente cultivado en medios que contengan Agar-sangre (34).

El parásito fue descubierto por Carlos Chagas en 1909 (9) en el contenido intestinal de *Panstrongylus megistus* en el estado de Minas Gerais, Brasil. Chagas, 1912 (10) comprobó por primera vez la infección natural de un armadillo (*Dasypus*). Brumpt, 1914 (8) presentó el xenodiagnóstico como importante medio diagnóstico de la infección. Tejera, 1918 (33) demostró por primera vez la enfermedad humana en Venezuela. Von Břand, 1966 (36) dio detallada informaci3n acerca del metabolismo intermediario de *Trypanosoma cruzi*, Se han hecho muchos esfuerzos por la obtenci3n de una vacuna, Gobel y colaboradores, 1964 (17), Gonz3lez, C. y colaboradores, 1968 (18).

En nuestro medio el principal transmisor es *Rhodnius prolixus*, encontrado en los ranchos con techo de paja y paredes de barro de las 3reas rurales. A pesar de haberse encontrado *Triatoma maculata* naturalmente infectados con *Trypanosoma cruzi* (14), se le atribuye importancia secundaria en la epidemiolog3a de la enfermedad de Chagas debido a sus h3bitos ornit3fagos y extradomiciliarios; sin embargo parece que el panorama tiende a cambiar, puesto que al disminuir las cr3as de aves, *Triatoma maculata* se ha adaptado a la habitaci3n humana y se alimenta de sangre de los seres que en ella moran.

Amaral y colaboradores, 1969 (1) encontraron por primera vez en la zona urbana de la ciudad de Sao Paulo - Brasil, dos ejemplares de *Panstron gylus megistus* infectados por *Trypanosoma cruzi*. En el año 1978 la División de Malariología y Saneamiento ambiental del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social hace observaciones acerca de la presencia de flagelados en las heces de *Triatoma maculata* en el Barrio Cerros de Marín en plena zona urbana de la ciudad de Maracaibo; por ese motivo nos dedicamos al estudio de la zona como un probable foco urbano de tripanosomiasis.

Cerros de Marín es una barriada situada en el corazón de la ciudad de Maracaibo, rodeada de una amplia zona residencial y comercial, está constituida por 540 casas donde residen 3.114 habitantes, muchos de ellos procedentes de otros países, principalmente Colombia. El tipo de construcción es muy heterogéneo; existen lujosas construcciones, casas y ranchos muy pobres. Los humanos conviven con una gran variedad de animales: aves, perros, gatos, cerdos, etc.

Es importante el estudio de esta zona y sus triatomos, debido a que existen muchas barriadas semejantes en diferentes sitios de la ciudad y de existir en ellas *Trypanosoma cruzi*, Maracaibo estaría expuesta a la enfermedad, por estar presentes todos los elementos de la cadena epidemiológica.

MATERIALES Y METODOS

En una primera visita al barrio Cerros de Marín se capturaron 250 ejemplares de *Triatoma maculata*, 150 ninfas y 60 adultos. Los Reduviideos fueron encontrados en diferentes sitios de las casas: palomares, gallineros, cercas de madera, grietas en las paredes e inclusive bajo los colchones de las camas. A los triatomos se les examinó sistemáticamente la hemolinfa y el contenido intestinal al fresco y por coloración con la técnica de Giemsa. El material positivo fue inoculado intraperitonealmente a ratones blancos (*Mus musculus*) de 20 días de edad, los cuales eran examinados cada 2 días obteniendo sangre por sección de la cola y la parasitemia cuantificada por el método de Pizzi (27). A los ratones que fallecieron se les practicaron cortes histológicos de corazón para buscar lesiones cardíacas con formas tisulares.

El estudio morfológico fue realizado en frotis de sangre de ratón obtenida por sección de la cola 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 e Freitas (11) fueron practicadas con un curvómetro de escala 1: 100.000.

Para demostrar la susceptibilidad de otros triatomos, 30 ninfas de *Rhodnius prolixus* obtenidas en el laboratorio, en quinto estadio evolutivo, después de prolongado ayuno, fueron alimentadas a partir de ratones infectados con la cepa en estudio.

CUADRO No. 1

Trypanosoma cruzi en sangre de ratón. Biometría promedio sobre 100 tripanosomas medidos

Medidas	Mínimas	Máxima	Media
Distancia P.N.	5.1 Micras	9.6 Micras	7.3 Micras
Distancia N.A.	3.8 Micras	8.9 Micras	6.0 Micras
Longitud del flagelo	2.9 Micras	7.9 Micras	5.2 Micras
Longitud Total	13.9 Micras	23.3 Micras	18.5 Micras
Anchura	1.3 Micras	4.0 Micras	2.4 Micras
Diámetro del Kinetoplasto	0.7 Micras	1.4 Micras	1.0 Micras
Índice Nuclear	0.77 Micras	2.1 Micras	1.2 Micras

CUADRO No. 2

Efectividad de los medios de cultivo sembrados con sangre de ratones infectados con **Trypanosoma**

Medio de Cultivo	Sembrados	Positivos	Porcentaje
N.N.N.	20	16	80
DAVIS	20	19	95

Para investigar la posibilidad de cultivo del parásito, se sembró material positivo proveniente de las heces de *Triatoma* así como, sangre de ratones infectados en 20 tubos de medio de Davis y 20 de medio N.N.N, los cuales eran examinados a partir del decimoquinto día de la siembra.

CUADRO No. 3

Efectividad de los medios sembrados a partir
de heces de triatomas infectados con **Trypanosoma**

Medio de Cultivo	Sembrados	Positivos	Porcentaje
N.N.N.	20	15	75
DAVIS	20	17	85

Los ratones que no murieron se utilizaron para pruebas de inmunidad cruzada, fueron inoculados con una cepa de *Trypanosoma cruzi* de origen humano de demostrada virulencia; y como control se utilizaron ratones libres de la infección, del mismo peso y edad, los cuales fueron inoculados con la misma cepa, a la misma dosis, por la misma vía y fueron mantenidos en idénticas condiciones.

Debido a que pareció extraño conseguir *Triatoma maculata* en plena zona urbana infectados con *Trypanosoma cruzi*, la Cédra de Parasitología de la Universidad del Zulia recomendó la repetición de la experiencia, para descartar que la infección de los ratones hubiera sido por otro mecanismo y no a partir de las heces de los triatominos. Para tal efecto se capturaron 150 nuevos ejemplares de *Triatoma maculata* y la experiencia fue repetida en la misma forma que la primera vez, pero teniendo ahora el cuidado de utilizar ratones de otra fuente y cuidadosamente examinados antes de su uso.

RESULTADOS

De los primeros 250 ejemplares de *Triatoma maculata*, 36 (14%) estaban infectados con un tripanosoma caracterizado por poseer el kinetoplasto voluminoso, fueron encontradas formas epimastigotas cortas, epimastigotas largas y tripomastigotas.

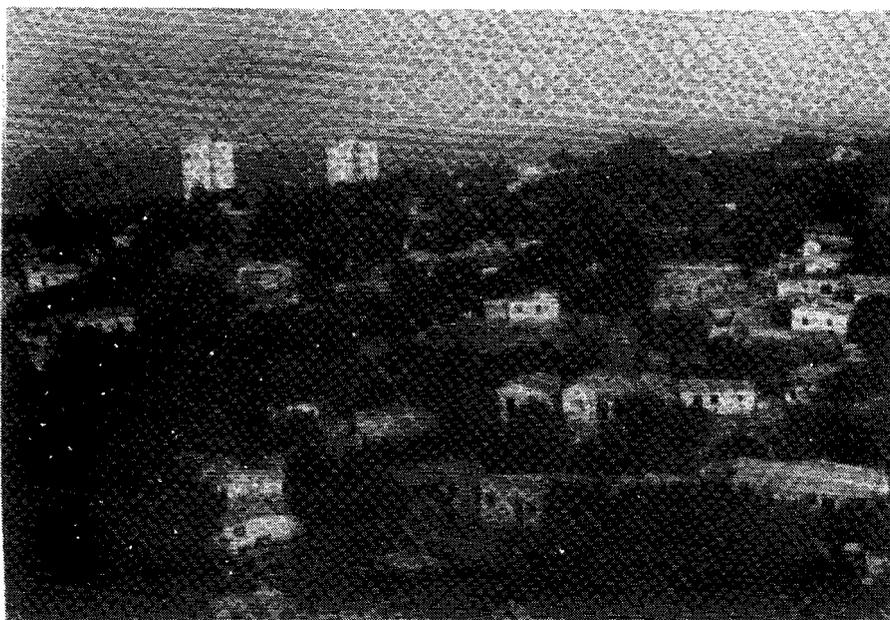
De los segundos 150 ejemplares, 12 (8%) estaban infectados con el mismo tipo de tripanosoma, morfológicamente muy semejante a *Trypanosoma cruzi*. Es de notar que los flagelados se encontraban en las heces de los triatominos, y nunca fueron encontrados en la hemolinfa.

Todos los 20 ratones inoculados con la cepa aislada adquirieron la infección, 12 de ellos murieron antes del segundo mes y los otros 8 pasaron a la fase crónica

CUADRO No. 4

Evolución de la infección en ratones inoculados con una cepa de
Trypanosoma cruzi aislada de triatomíneos capturados en
 Cerros de Marín (Maracaibo – Venezuela).

RATON No.	PERIODO PREPATENTE días	PARASITEMIA MAXIMA formas por mm ³ ,	días.	OBSERVACIONES
1	11	15.918	31	Murió a los 33 días
2	8	20.237	25	Murió a los 31 días
3	17	9.541	40	Sobrevivió
4	9	22.162	26	Murió a los 30 días
5	8	12.950	24	Murió a los 25 días
6	8	7.875	35	Sobrevivió
7	15	13.293	38	Murió al día 40
8	25	9.261	40	Sobrevivió
9	13	7.819	30	Murió a los 51 días
10	22	1.281	40	Sobrevivió
11	12	11.529	35	Murió a los 41 días
12	20	9.338	40	Sobrevivió
13	16	7.322	40	Sobrevivió
14	15	6.251	35	Murió a los 50 días
15	15	6.132	40	Sobrevivió
16	8	13.251	27	Murió a los 28 días
17	12	8.120	40	Murió a los 48 días
18	12	6.230	45	Murió a los 48 días
19	15	5.341	45	Sobrevivió
20	12	10.836	40	Murió a los 41 días
PROMEDIO	14	10.234	36	



Fotografía No. 1. Vista panorámica de Cerros de Marín.

(Cuadro No. 4). Los ratones muertos presentaron en su totalidad lesiones tisulares cardíacas con abundantes formas amastigotas (Fotografía No. 5).

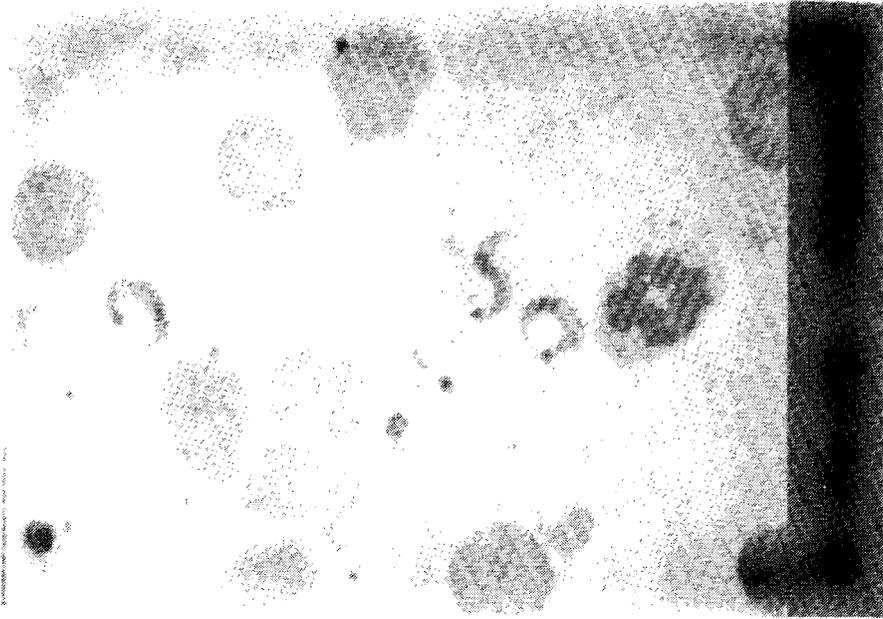
Las formas observadas en sangre de ratón fueron siempre tripomastigotas, con forma de C o S, kinetoplasto redondeado u ovoide, grande, de situación terminal o subterminal, membrana ondulante evidente con escaso número de ondulaciones, núcleo ovoide o redondeado de situación central o más cerca de la extremidad anterior (Fotografía No. 3 y Diagrama No. 1).

Las formas tripomastigotas sanguíneas eran de pequeño tamaño, la longitud total osciló entre 13.9 y 23.3 micras, con promedio de 18.5 micras y el Índice Nuclear promedio fue de 1.2 micras. El estudio biométrico completo puede ser observado en el cuadro No. 1.

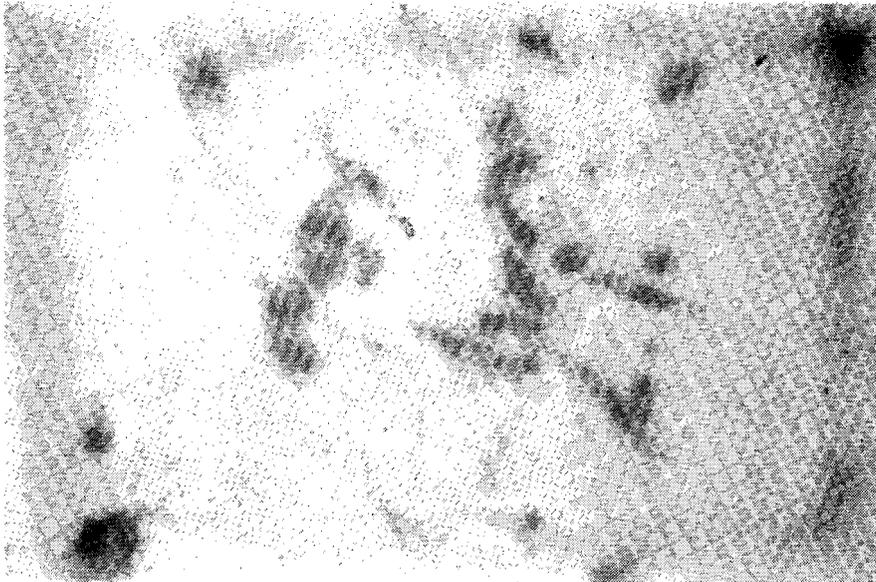
Todos los 30 ejemplares de *Rhodnius prolixus* alimentados con sangre de ratones infectados con la cepa aislada adquirieron la infección, observándose a los 30 días abundantes formas evolutivas en heces, formas muy semejantes a las observadas originalmente en los ejemplares de *Triatoma maculata* capturados en Cerros de Marín (Fotografía No. 4 y Diagrama No. 2).



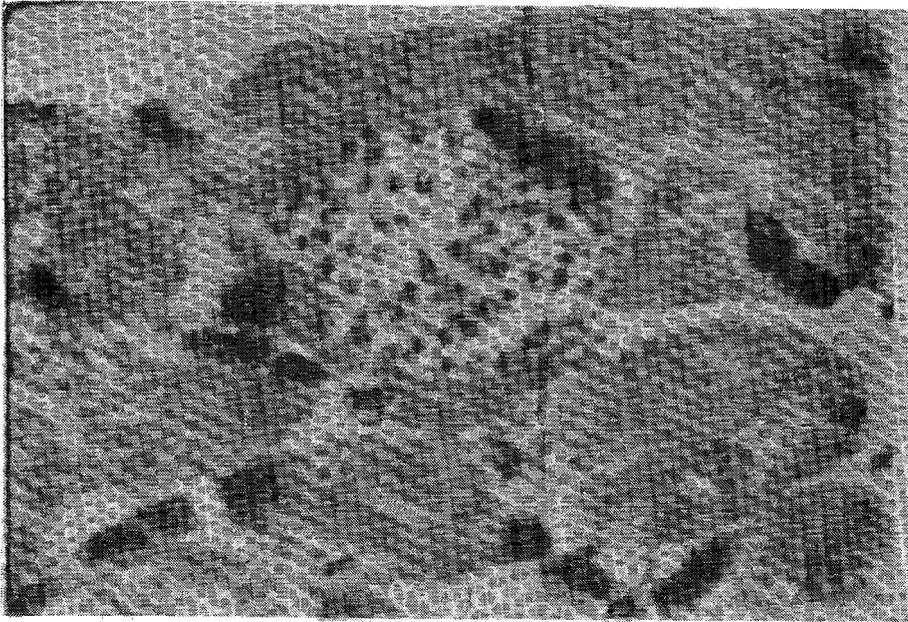
Fotografía No. 2. Casa de Cerros de Marín donde se encontraron triatominos infectados. Nótese la cercanía de un colegio y dos conjuntos residenciales.



Fotografía No. 3. *Trypanosoma cruzi* en sangre de ratón.



Fotografía No. 4. Formas evolutivas de *Trypanosoma cruzi* en heces de *Triatoma maculata*.



Fotografía No. 5. Nidos leishmánicos en cortes de corazón de ratones inoculados con la cepa de *Trypanosoma*.

Los tubos con medio de cultivo sembrados a partir de sangre de ratones infectados resultaron positivos en un 80% para el medio de N.N.N y en el 95% para el medio de Davis (Cuadro No. 2).

Cuando los medios fueron sembrados a partir de heces de *Triatoma*, la positividad fue de 75% para el medio de N.N.N y 85% para el medio Davis (Cuadro No. 3).

En los ratones inoculados con la cepa aislada el período prepatente varió entre 5 y 25 días, con promedio de 14 días. La parasitemia máxima fue variable, entre los días 24 y 45, con promedio de 36 días después de la inoculación, con cifras que en el 100% de las veces fue siempre mayor de 1.000 parásitos por milímetro cúbico, siendo la cifra promedio 10.234 formas evolutivas por milímetro cúbico. (Cuadro No. 4).

De los 8 ratones que pasaron a la fase crónica y fueron inoculados luego con una cepa virulenta de *Trypanosoma cruzi*, solamente murió 1 (12,5%) mientras que 7 (87,5%) de los ratones vírgenes de la infección murieron cuando fueron inoculados con la misma cepa.

DIAGRAMA No. 1

TRYPANOSOMA CRUZI EN SANGRE DE RATON
DIBUJOS EN CAMARA CLARA

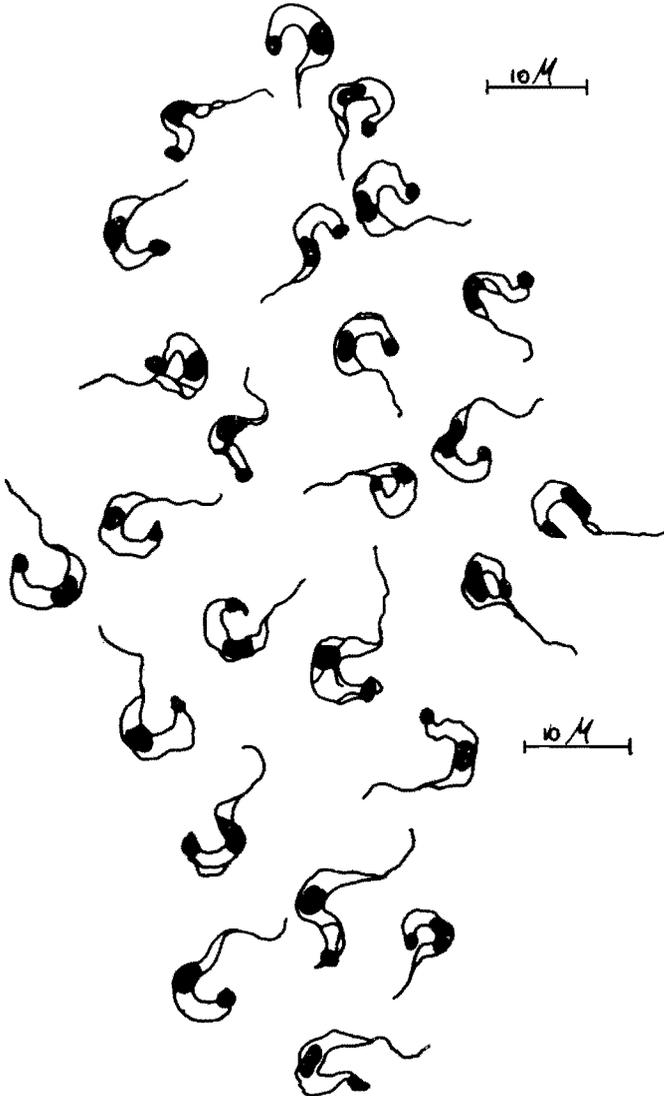
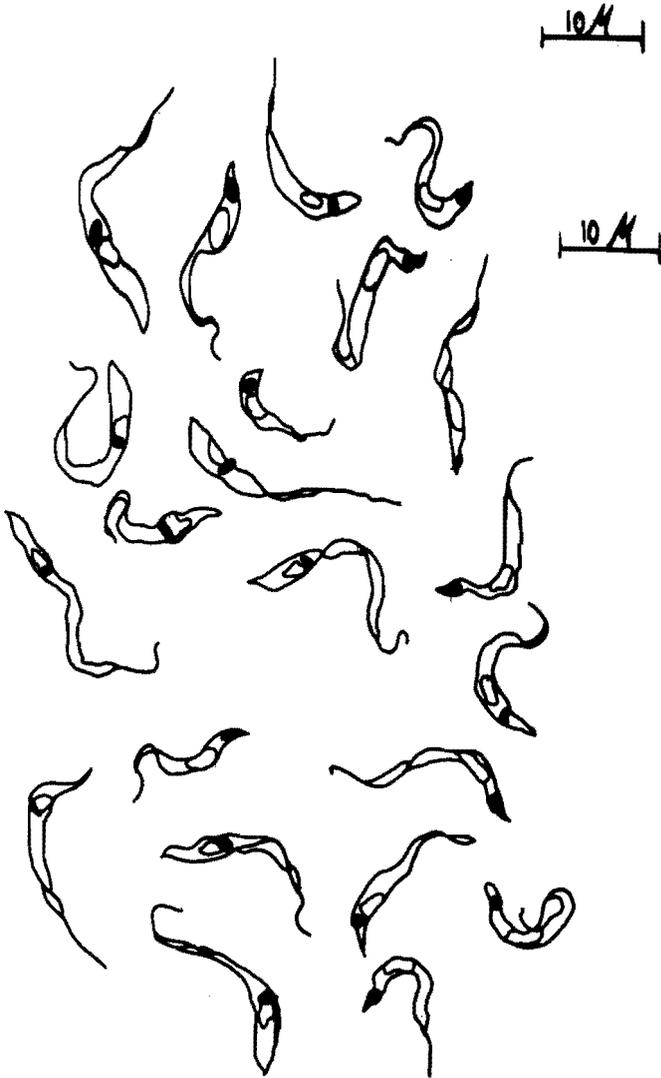


DIAGRAMA No. 2

TRYPANOSOMA CRUZI EN HECES DE TRIATOMA,
DIBUJOS EN CAMARA CLARA



DISCUSION

Días y Freitas (11) y Barreto (5) han hecho consideraciones acerca de los elementos indispensables para la identificación de un trypanosoma como *Trypanosoma cruzi*, estos elementos son:

- 1.- Semejanza morfológica.
- 2.- Coincidencia de los datos biométricos.
- 3.- Cultivo fácil en medios artificiales a base de Agar-sangre.
- 4.- Evolución en el tubo digestivo de triatominos, con presencia de trypanosomas metacíclicos en el intestino posterior.
- 5.- Capacidad para infectar al ratón blanco y multiplicarse bajo formas amastigotas en los tejidos del ratón experimentalmente infectado.
- 6.- Aumento de la resistencia contra la superinfección con cepas altamente virulentas de origen humano.

Al analizar los resultados obtenidos del estudio de la cepa de trypanosoma aislada a partir del contenido intestinal de *Triatoma maculata* en el barrio Cerros de Marín y compararlos con los parámetros arriba mencionados, se puede decir que estamos ante una cepa de *Trypanosoma cruzi* con virulencia relativamente alta y que Cerros de Marín representa un foco urbano de *Trypanosoma cruzi*.

El hecho de existir gran cantidad de triatominos, su alto índice infección (12%), su demostrada domiciliaridad y la probable zooantropofilia, hace pensar que los humanos y animales domésticos pudieran estar infectados por *Trypanosoma cruzi*, esta materia será objeto de futuras investigaciones.

La existencia en la ciudad de Maracaibo de muchas barriadas semejantes a Cerros de Marín, donde también se ha reportado la presencia de *Triatoma maculata*, nos debe llamar seriamente a reflexión e incentivar a continuar investigando esas barriadas, que de estar también infectadas por *Trypanosoma cruzi* pudieran representar un peligro futuro para nuestra población urbana.

LITERATURA CITADA

- 1.— AMARAL A.; CASTANHO, M. e REIS, L.; Primeiro encontro de triatomeos naturalmente infetados por *Trypanosoma* semelhante ao *Trypanosoma cruzi* na cidade de Sao Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Med. Trop. S. P.* 11 (6): 403-407, 1969.
- 2.— BARRETO, M. e FERRIOLLI, F.: Estudo sobre reservatorios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. VIII - - Observacoes sobre a infecao experimental de gambas por trypanosomas i soldados deste animais. *Rev. Brasil Biol.* 25 (1): 35-47, 1955.

- 3.— BARRETO, M. e cols.: Estudo sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. VII - - Investigações sobre a infecção natural de gambas por tripanosoma semelhantes a o *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Brasil. Biol.* 24 (3): 289-300, 1964.
- 4.— BARRETO, M.: Reservatórios do *Trypanosoma cruzi* nas Américas. *Rev. Brasil. Malariol. e Doenças Tropicais.* 16 (4): 527-552, 1964.
- 5.— BARRETO, M.: Tripanossomos semelhantes ao *Trypanosoma cruzi* em animais silvestres e sua identificação como agente etiológico da Doença de Chagas. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.* 7 (5): 305-315, 1965.
- 6.— BARRETO, M.: Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XVII - - Contribuição para o estudo dos focos naturais da tripanossomose americana, com especial referência a região nordeste do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.* 1 (2): 23-35, 1967.
- 7.— BARRETO, M.; ALBURQUERQUE, R. e FUNAYAMA, G.: Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXXVI - - Investigações sobre triatomíneos de palmeiras no município de Uberaba, M.G., Brasil. *Rev. Brasil. Biol.* 29 (4): 578-588, 1969.
- 8.— BRUMPT, E.: O xenodiagnóstico Aplicação ao diagnóstico de algumas infecções parasitárias e em particular a tripanossomose de Chagas. *Ann. Paulistas de Medicina y Cirugia* 3: 97-102, 1914.
- 9.— CHAGAS, C.: Nova tripanozomíase humana. *Mem. Inst. O. Cruz.* 1:159-218, 1909.
- 10.— CHAGAS, C.: Sobre um Tripanosoma do tatu, *Tatusia novencineta*, transmitido pelo *Triatoma geniculata*. Possibilidade de ser o tatu um depositário do *Trypanosoma cruzi* no mundo exterior (Nota Previa). *Brasil. Med.* 26: 305-306, 1912.
- 11.— DIAS, E. e FREITAS, F.: Introdução ao estudo biométrico dos hemoflagelados do gênero *Schizotrypanum*. I - - Introdução, Material e Métodos. *Mem. Inst. O. Cruz.* 38 (3): 427-236, 1943.
- 12.— DIAS, E.: Sobre um *Schizotrypanum* dos murcegos *Lonchoglossa ecaudata* e *Carollia perspicillata* do Brasil. *Mem. Inst. O. Cruz.* 35: 399, 1940.
- 13.— DIAZ, U. C.; GALLARDO, Z. y YEPEZ, S.: Uso de la prueba del chipo en las investigaciones sobre *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Iber. Parasit.* 26 (2): 193-201, 1966.
- 14.— DIAZ, V. A.: Consideraciones epidemiológicas de la enfermedad de Chagas. *Arch. Venez. Med. Trop. Parasit. Med.* 3 (2): 188-201, 1960.
- 15.— FERRIOLI, F.; BARRETO, M. e CARVALHEIRO, J.: Estudo sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXIV - - Variação dos dados biométricos obtidos em amostras do *Trypanosoma cruzi* isoladas de casos humanos da Doença de Chagas. *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.* 2 (1): 1 - 8, 1968.
- 16.— FUNAYAMA, G. e PRADO, J. C. Jr.: Estudo dos caracteres de uma amostra boliviana de *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.* 8 (2): 75-81, 1974.
- 17.— GOBEL, F. C.; BOYD, J. L.; WEHNER, M. and KONRATH, M.: Vaccination against experimental Chagas disease with homogenates of culture forms of *Trypanosoma cruzi*. *J. Parasitol.* 50 Suppl. 19 (Abstract), 1964.
- 18.— GONZALEZ, S.; SCHAMUNIS, G.; TRAVERSA, O.; YANOVSKY, J. and PARODI, A.: Complement fixation tests, skin tests and experimental immunization with antigens of *Trypanosoma cruzi* prepared under pressure. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 17: 709-715, 1968.
- 19.— HOARE, C. A.: The Trypanosomes of mammals. A zoological monograph, London. *Ed. Blackwell Scientific Publications*, 1972.
- 20.— KREIER, P. *Parasitic Protozoa*. Vo. 1 Fife, E. Jr.: *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*. London 1ra. Ed.: 35-173, 1977.

- 21.— LÉAL, H.; FERREIRA, J. e MARTINS, C.: Dados ecológicos sobre os triatomíneos silvestres na ilha de Santa Catarina, Brasil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. 3 (5): 213-220, 1961.
- 22.— LUCENA, D. Ecología dos triatomíneos do Brasil. *Rev. Brasil. Malariolog. e Doencas Tropicais*. 2 (4): 577-635, 1959.
- 23.— PIFANO, F. Algunos aspectos de la enfermedad de Chagas en Venezuela. *Arch. Venez. Patol. Trop. Parasit. Med.* 3(2): 73-99, 1960.
- 24.— PIFANO, F.: La enfermedad de Chagas y sus problemas. *Arch. Venez. Patol. Trop. Parasit. Med.* 3(2): 101-106, 1960.
- 25.— PIFANO, F.: La dinámica epidemiológica de la enfermedad de Chagas en el Valle de los Naranjos, Estado Carabobo, Venezuela. I - - Contribución al estudio de los focos naturales silvestres de *Schizotrypanum cruzi*. Chagas, 1909. *Arch. Venez. Méd. Trop. Parasit. Méd.* 5 (2): 3-29, 1973.
- 26.— PIFANO, F.: La epidemiología de la enfermedad de Chagas en Venezuela. *Arch. Venez. Patol. Trop. Parasit. Med.* 5(2): 171-184, 1973.
- 27.— PIZZI, T.: Inmunología de la enfermedad de Chagas. Santiago. Universidad de Chile. *Colección de monografías biológicas de la Universidad de Chile*. No. 7, 1957.
- 28.— SIFONTES, R.: Desarrollo y estado actual del programa de control de la enfermedad de Chagas en Venezuela *IV Congreso Latinoamericano de Parasitología*. San José de Costa Rica. Documento mimeografiado: 79, 1976.
- 29.— SILVA, L. e NUSSENZEIG, V.: Sobre una cepa de *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para o cumandongo branco. *Folia Clin. e Biol.* 20 (3) 191-208, 1953.
- 30.— SOTO, R. y SOTO, S.: Valor del xenodiagnóstico en la fase crónica de la enfermedad de Chagas. *Rev. Fac. Med. Maracaibo*. 1(1): 23-30, 1968.
- 31.— SOTO, S. y SOTO, R.: Infección natural de la *Dasyprocta azarae* por un tripanosoma semejante al *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Fac. Med. Maracaibo*. 1 (2): 15-25, 1968.
- 32.— SOTO, R.: El xenodiagnóstico. Experiencia personal en 100 casos de enfermedad de Chagas crónica. *Kasmera*. 3 (3): 167-225, 1970.
- 33.— TEJERA, E.: La tripanosomiasis americana en Venezuela. *Tipografía Vargas*, Caracas, Venezuela, 1919.
- 34.— TOBIE, E.: Cultivation of mammalian tripanosomas. *J. Protozool.* 11: 418-423, 1964.
- 35.— TORREALBA, J.: Una pequeña contribución al estudio de focos extradomésticos de triatomíneos transmisores de la enfermedad de Chagas en Venezuela. *Gac. Méd. Caracas*. No. 61, 1953.
- 36.— VON BRAND, T.: Biochemistry of parasites. *Academic Press New York*, 1966.
- 37.— ZELEDON, R. and NIETO, P.: Comparative study of *Schizotrypanum cruzi*, Chagas, 1909 from Costa Rica *J. Parasitol.* 44:499, 1958.