

## ESTUDO DE UMA CEPA PERUANA DE *TRYPANOSOMA RANGELI* IV – OBSERVAÇÕES SOBRE SUA EVOLUÇÃO E MORFOGÊNESE NA HEMOCELE E NAS GLÂNDULAS SALIVARES DE *RHODNIUS* *ECUADORIENSIS*

César A. Cuba CUBA (\*)

### RESUMO

Baseados nas observações de *Rhodnius ecuadoriensis* infectados experimentalmente com uma cepa peruana de *T. rangeli*, ciclicamente mantida em um esquema triatomíneo-cobaia-triatomíneo, sugerimos a seguinte seqüência evolutiva do tripanosomatídeo na hemocele do vector: após atravessarem a parede do tubo digestivo e atingirem a hemocele os flagelados, aparentemente apresentam uma evolução fora das células hemolinfáticas e outra no interior dos hemócitos: a) na evolução extracelular, os epimastigotas curtos se dividiriam dando origem a “clusters” de flagelados, dos quais se desprenderiam epimastigotas com potencialidade para se diferenciarem em tripomastigotas longos ou, então, continuarem a formar as grandes massas de flagelados; b) na evolução intracelular, epimastigotas e/ou tripomastigotas penetrariam nos hemócitos, seriam transformados em “esferomastigotas” que se multiplicariam e, posteriormente, por um processo de “vacuolização” e “desenrolamento” originariam os tripomastigotas metacíclicos; essas formas infectantes seriam liberados na hemolinfa por ruptura dos hemócitos. Nas glândulas salivares de *R. ecuadoriensis* a seqüência evolutiva seria a seguinte: epimastigotas iniciariam ativa multiplicação, provavelmente no interior das células glandulares; a partir dessas formas se originariam “esferomastigotas” que, por processo semelhante ao descrito para a evolução nos hemócitos, se diferenciariam em tripomastigotas metacíclicos.

### INTRODUÇÃO

Estudos relativos ao desenvolvimento e evolução do *Trypanosoma rangeli* na hemolinfa e glândulas salivares de triatomíneos foram inicialmente efetuados por GROOT<sup>7</sup> com uma cepa colombiana do flagelado em *Rhodnius prolixus*. Este assunto tem recebido pouca atenção, pois as investigações têm visado demonstrar o papel dos triatomíneos testados como vectores naturais ou potenciais do *T. rangeli*<sup>12, 16, 2, 3</sup>. Recentemente, TOBIE<sup>14</sup> estudou o desenvolvimento de uma cepa venezuelana de *T. rangeli* inoculada no

hemocele de *Rhodnius prolixus*, descrevendo a ocorrência de um ciclo hemolinfático com formas extra e intracelulares (em plasmatócitos), assim como a existência de tripomastigotas metacíclicos livres na hemolinfa. A Autora representa esquematicamente sua interpretação do ciclo do flagelado na cavidade geral do inseto. WATKINS<sup>15</sup> relata o encontro de formas intracelulares do parasita na parede das glândulas salivares de *R. prolixus* e na maioria de outros tecidos do mesmo triatomíneo experimentalmente infectado, des-

Trabalho realizado no Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Caixa Postal 1743, 30.000 Belo Horizonte, Brasil

(1) Endereço atual: Faculdade de Ciências da Saúde, Departamento de Medicina Complementar, Universidade de Brasília, Brasília, D.F., Brasil

crevendo também formas do *T. rangeli* no interior dos hemócitos.

Com o fim de ajudar a explicar a provável seqüência evolutiva das formas de *T. rangeli* na hemolinfa e nas glândulas salivares do vector no Peru, *Rhodnius ecuadoriensis*, foi realizado o presente trabalho.

#### MATERIAL E MÉTODOS

A cepa peruana de *T. rangeli* tem sido mantida seguindo o esquema de: triatomíneo-cobaia-triatomíneo. Os *R. ecuadoriensis* utilizados provinham de uma colônia que estabelecemos no Insetário do Instituto Nacional de Endemias Rurais, Belo Horizonte, Brasil, a partir de exemplares capturados no Peru<sup>3</sup> e conservados a 25°C ± 1°C e umidade relativa de 70-75%.

Cobaias jovens foram infectadas por picada de triatomíneos que haviam demonstrado previamente estar transmitindo o *T. rangeli*. Os animais apresentaram geralmente 5-7 tripomastigotas por 5 mm<sup>3</sup> de sangue periférico. Em diferentes ocasiões, lotes de *R. ecuadoriensis*, criados em laboratório, foram colocados para alimentar-se nos referidos animais. Os que se recusavam a fazê-lo foram imediatamente eliminados. Os triatomíneos foram alimentados em pombos, cada 15 dias, nas experiências com duração superior a 30 dias. Os lotes de insetos infectados foram mantidos nas mesmas condições de temperatura e umidade descritas.

Foram efetuados exames periódicos da hemolinfa, obtida pelo método de D'ALESSANDRO<sup>4</sup>, sendo os insetos positivos separados individualmente em caixinhas de papelão e identificados. A observação do material hemolinfático foi realizada durante todo o tempo de vida dos insetos positivos.

A infecção de glândulas salivares foi comprovada através de experiências de transmissão por picada em camundongos. Os insetos que transmitiram foram isolados e posteriormente dissecados em diversos períodos de tempo. Nas ninfas as glândulas salivares foram extraídas por simples tração da porção cefálica do inseto; nos adultos levantava-se o pronoto e cortava-se a musculatu-

ra torácica dorsal e os corpos gordurosos do inseto, puxando-se cuidadosamente a cabeça junto com as glândulas aderidas.

A hemolinfa e as glândulas salivares eram observadas a fresco e depois coradas pelo método de Giemsa após hidrólise ácida<sup>5</sup>. Durante a observação microscópica do material, as formas mais representativas do presumível ciclo do parasita foram desenhadas com câmara clara e fotografadas. Em algumas ocasiões a evolução foi acompanhada no microscópio de contraste de fase e através de esfregaços efetuados a intervalos curtos (24-48 horas, aproximadamente).

#### RESULTADOS

##### 1) *Desenvolvimento na hemolinfa*

Baseados nas preparações obtidas de numerosos exemplares de triatomíneos examinados em diferentes fases de infecção, postulamos o seguinte esquema de evolução do *T. rangeli* na hemolinfa:

Parece evidente que o ciclo se processa em duas fases bem definidas: uma de evolução extracelular e outra de evolução intracelular ou intra-hemocitária. Aparentemente, a primeira iniciaria o ciclo na hemocele, mas a segunda se instalaria quase imediatamente, já que é possível surpreender parasitas no interior de células hemolinfáticas em infecções bastante precoces.

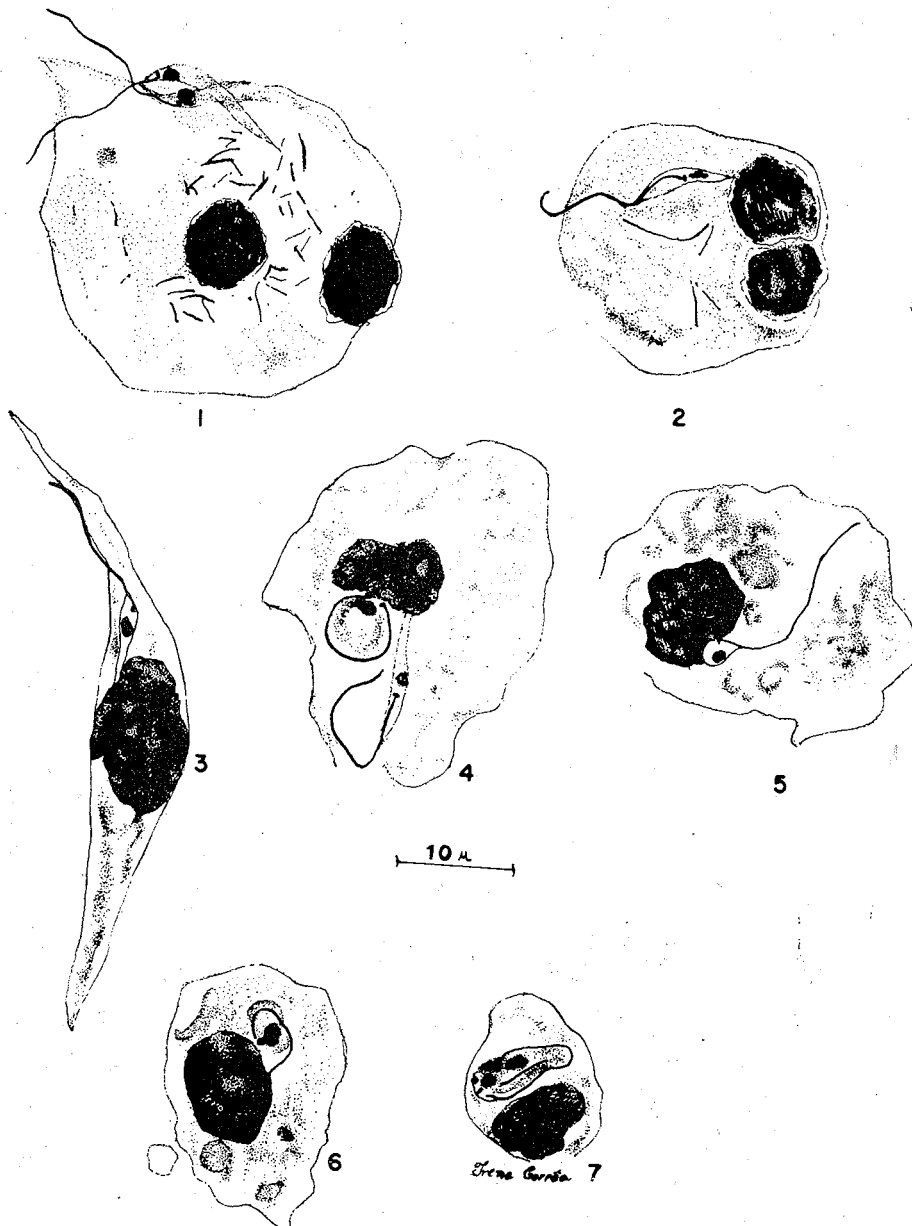
A seqüência provável da fase extracelular seria constituída pelo aparecimento de raros epimastigotas curtos, grande parte deles em divisão binária (Prancha I, Figs. 1-4). Em seguida se apresentam epimastigotas formando "clusters" a princípio constituídos por pequeno número de flagelados (Prancha I, Figs. 5, 6 e 7; Prancha VII, Figs. 1-3). Esses "clusters" de epimastigotas são aparentemente originados pela divisão múltipla das organelas citoplasmáticas (Prancha II, Figs. 1-3; Prancha VII, Fig. 4) e evoluem até formar massas gigantes de epimastigotas com aspecto emaranhado e que são encontrados geralmente na hemolinfa de insetos com infecções mais antigas (Prancha VII, Fig. 5). Des-



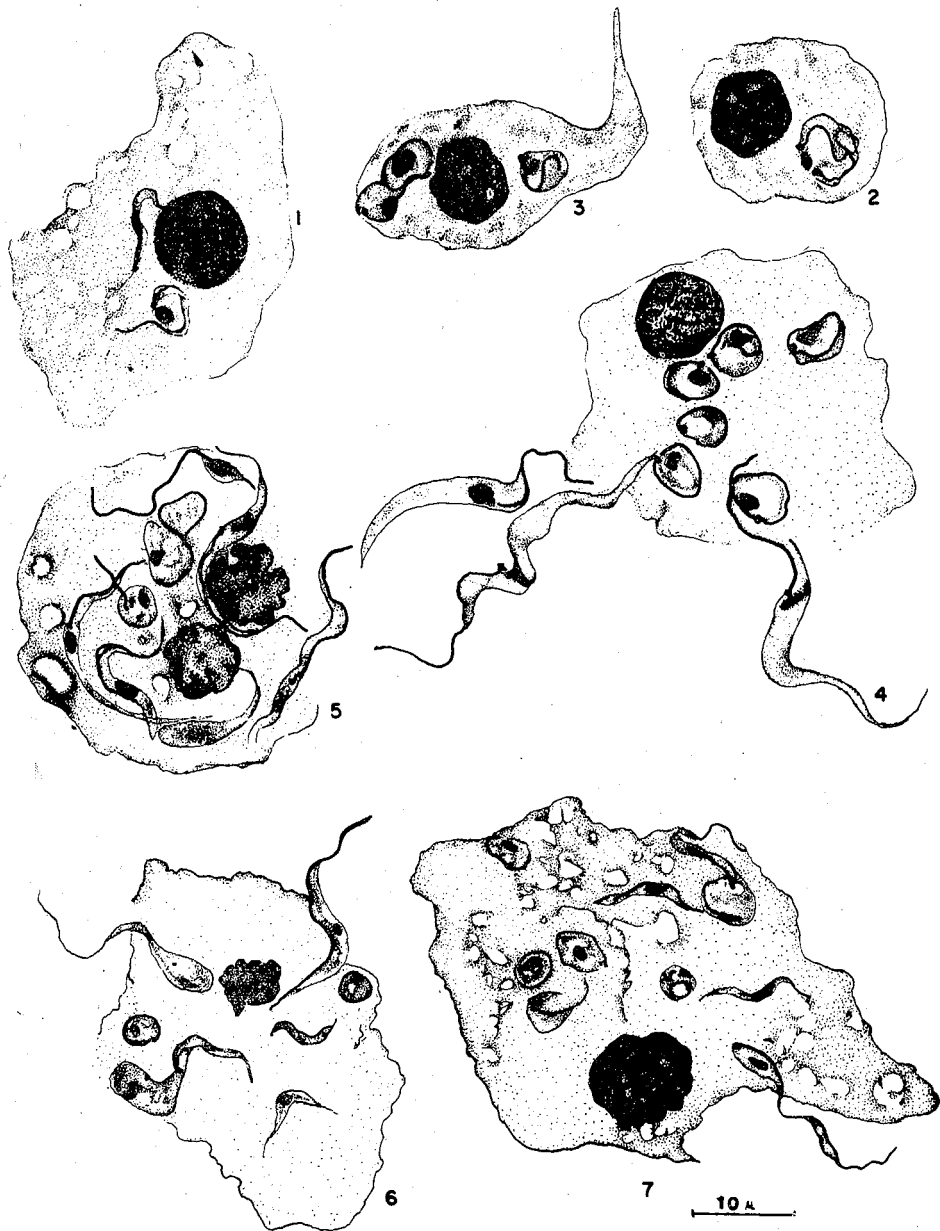
Prancha I — Hemolinfa de *R. ecuadoriensis* experimentalmente infectados com *T. rangeli*. Formas hemolinfáticas extracelulares. Figs. 1-3 — Epimastigotas longos. Fig. 4 — Epimastigotas em divisão binária longitudinal. Figs. 5-7 — "Clusters" de epimastigotas em divisão múltipla. Figs. 8-14 — Tripomastigotas longos. Figs. 15-18 — Formas arredondadas em "desenrolamento". Figs. 19-22 — Tripomastigotas metacíclicos. Fig. 23 — Tripomastigota metacíclico sugerindo divisão. Desenhos em câmara-clara.



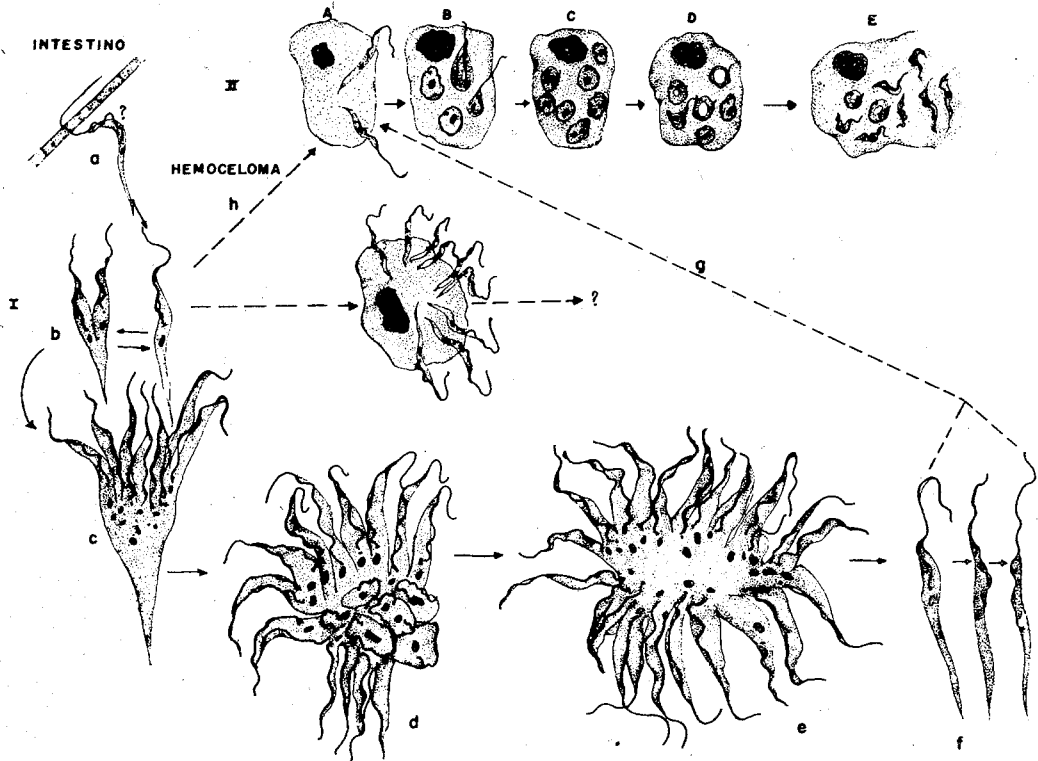
Prancha II — Hemolinfa de *R. ecuadoriensis* experimentalmente infectado com *T. rangeli*. Formas hemolinfáticas extracelulares. Figs. 1-3 — Massas de epimastigotas em aparente divisão múltipla. Esfregação por aposição de musculatura torácica do inseto. Desenhos em câmara-clara.



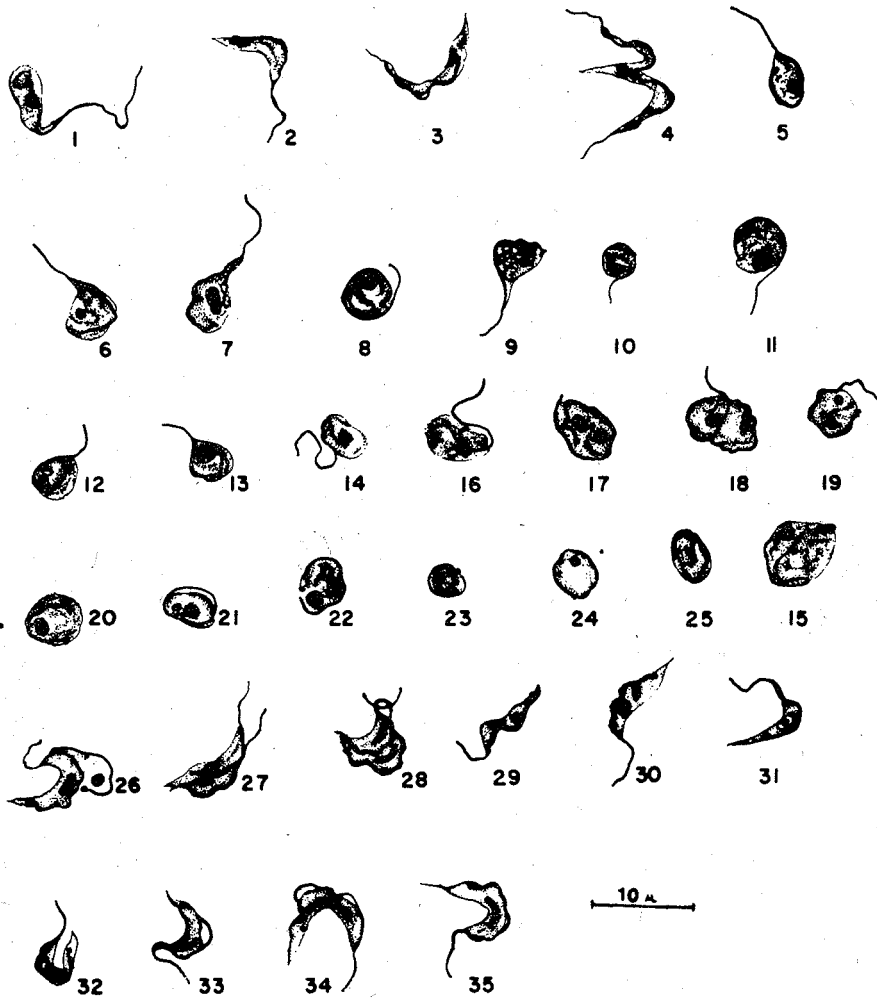
Prancha III — Hemolinfa de *R. ecuadoriensis* experimentalmente infectado por *T. rangeli*. Formas hemolinfáticas intracelulares. Figs. 1-3 — Epimastigotas em hemócitos. Fig. 4 — Epimastigota e “esferomastigota”. Figs. 5-6 — Formas flageladas em “enrolamento”. Fig. 7 — “Esferomastigota” em provável divisão. Desenhos em câmara-clara.



Prancha IV — Hemolinfa de *R. ecuadoriensis* experimentalmente infectado por *T. rangeli*. Formas hemolinfáticas intracelulares. Fig. 1 — Tripomastigota e “esferomastigota” em hemócito. Fig. 2 — “Esferomastigota” em aparente divisão. Figs. 3-4 — Hemócitos com vários “esferomastigotas”. Fig. 5 — Hemócitos com formas de transição de epimastigotas e “esferomastigotas”. Figs. 6-7 — Hemócitos com “esferomastigotas” vacuolados e típicos tripomastigotas metacíclicos. Esfregação por aposição de musculatura torácica do inseto. Desenhos em câmara-clara.

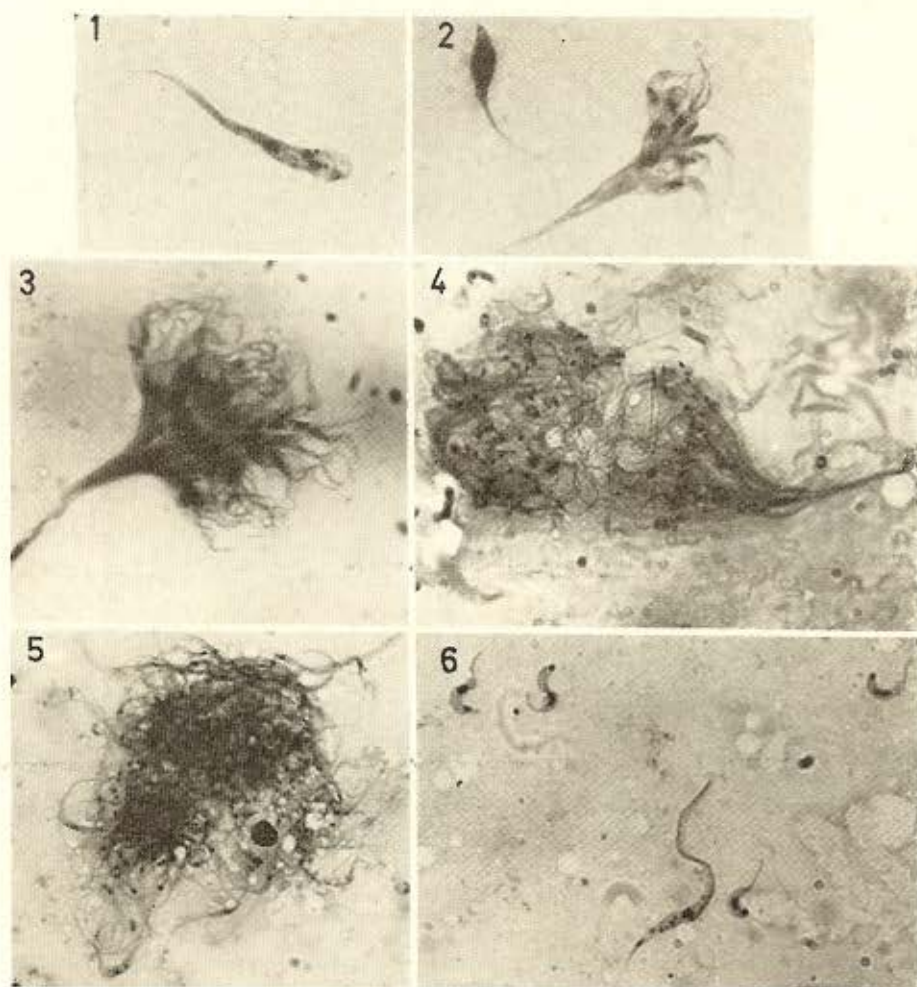


Prancha V — Provável sequência evolutiva do *T. rangeli* em hemolinfa de *R. ecuadoriensis* experimentalmente infectado. I, a-h — Fase hemolinfática extracelular. II, A-E — Fase hemolinfática intra-hemocitária. I, a — Flagelados, provavelmente epimastigotas, passam através da parede intestinal do inseto. b — Epimastigotas curtos se multiplicam por divisão binária. c — "Clusters" de epimastigotas formados por divisão múltipla. d-e — Grandes massas de epimastigotas em ativo processo de multiplicação. f — Diferenciação de epimastigotas para tripomastigotas longos. g-h — Penetração de epimastigotas e/ou tripomastigotas nos hemócitos. II, A-B — Epimastigotas e/ou tripomastigotas penetram nos hemócitos, arredondam-se e formam "esferomastigotas". C — "Esferomastigotas" em divisão. D — "Esferomastigotas" com vacuolos. E — Ruptura do vacuolo dos "esferomastigotas", formação e liberação de tripomastigotas metacíclicos.

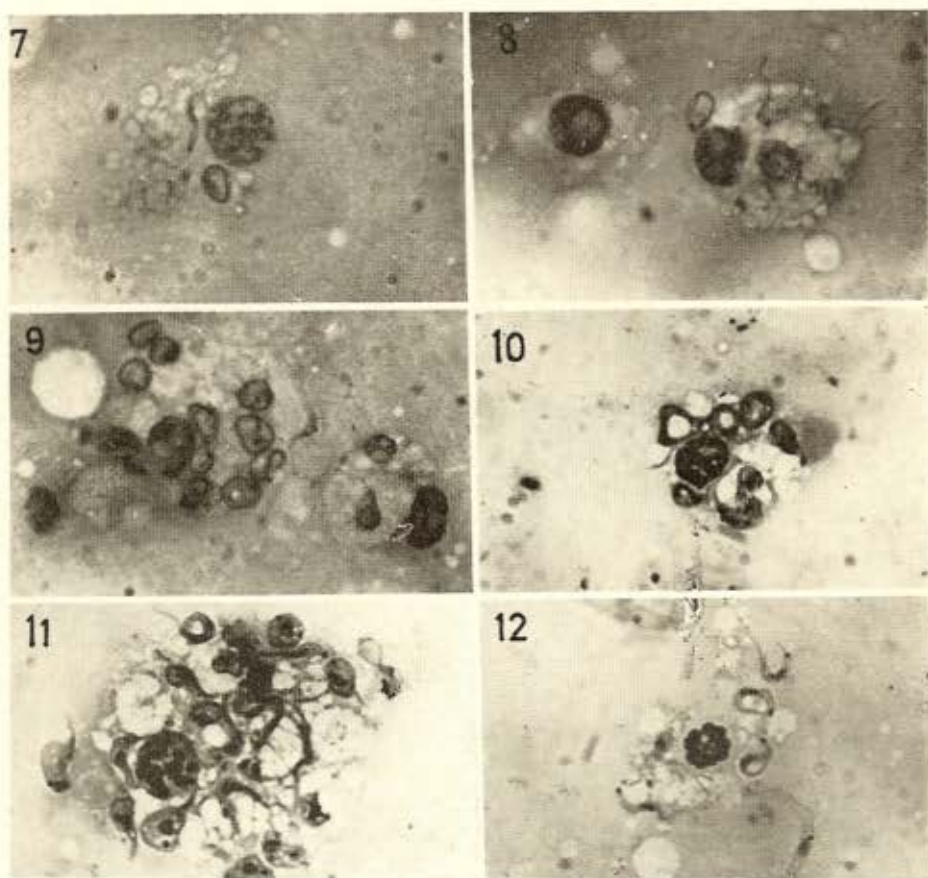


Prancha VI — Conteúdo de glândulas salivares de *R. ecuadoriensis* experimentalmente infectado com *T. rangeli*. Figs. 1-3 — Epimastigotas curtos. Fig. 4 — Epimastigotas em divisão. Figs. 5-15 — Formas arredondadas, alongadas, flageladas. Figs. 16-18 — Formas arredondadas, flageladas, em divisão. Figs. 19-25 — “Esferomastigotas”. Figs. 26-30 — Tripomastigotas metacíclicos em divisão. Figs. 31-35 — Tripomastigotas metacíclicos típicos. Desenhos em câmara-clara.

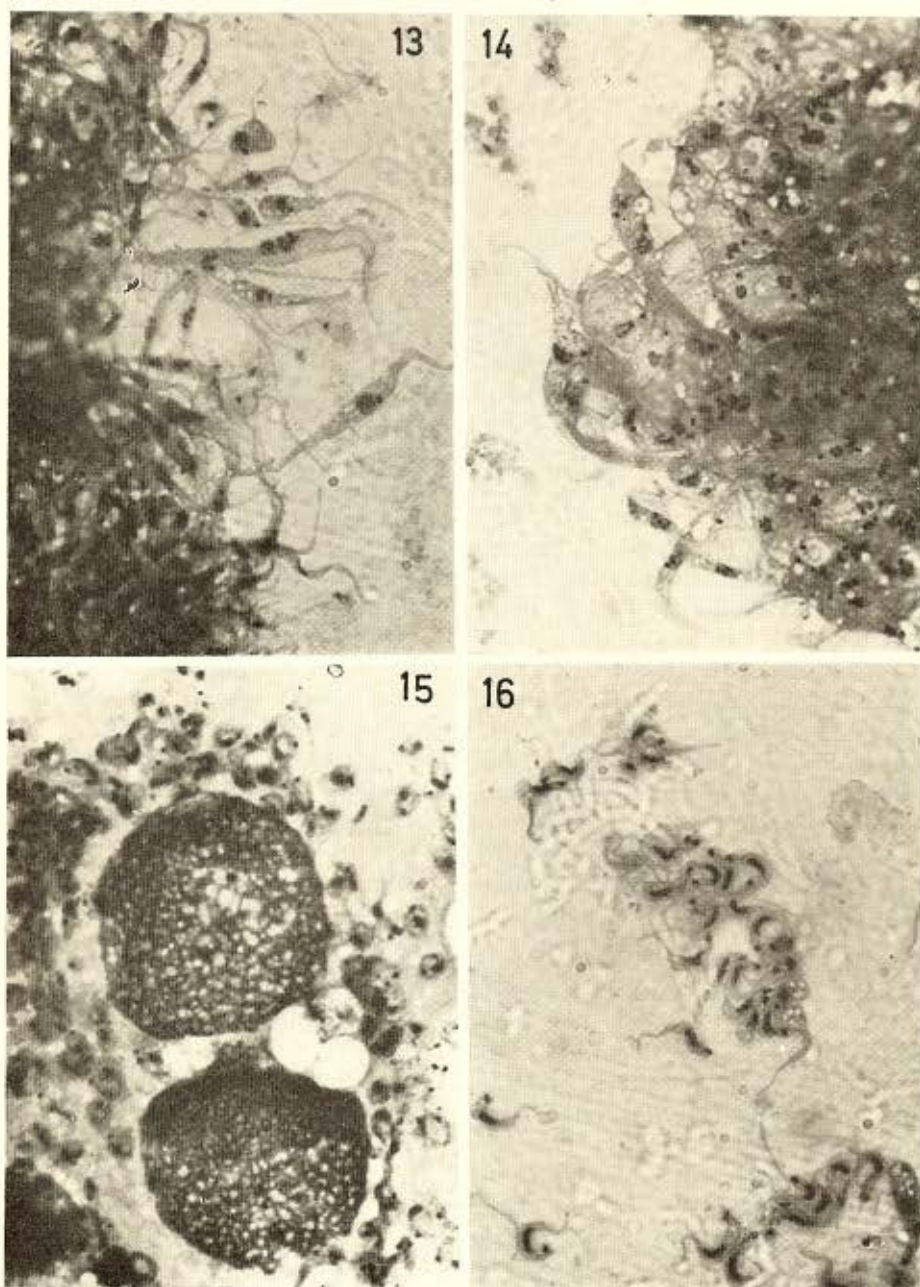




Prancha VII — Hemolinfa de *R. ecuadoriensis* experimentalmente infectado com *T. rangeli*. Formas hemolinfáticas de evolução extracelular. Fig. 1 — Epimastigotas em divisão. Figs. 2-3 — "Clusters" de epimastigotas. Fig. 4 — "Clusters" gigantes de epimastigotas com organelas em aparente divisão múltipla. Fig. 5 — Densas massas de epimastigotas. Fig. 6 — Forma de transição entre epimastigota e tripomastigota longo. 1.500 ×.



Prancha VIII — Hemolinfa de *R. ecuadoriensis* experimentalmente infectado com *T. rangeli*. Formas hemolinfáticas de evolução intracelular. Fig. 7 — Tripomastigotas e "esferomastigotas" no interior de um hemócito, Fig. 8 — Formas flageladas iniciando o processo de "enrolamento", "Esferomastigota" em aparente divisão. Fig. 9 — Hemócitos com vários "esferomastigotas". Fig. 10 — Vacuolização dos "esferomastigotas", tripomastigota em formação. Fig. 11 — Formas em transição entre "esferomastigotas" e tripomastigotas metacíclicos. Fig. 12 — Tripomastigotas metacíclicos. 1.500 x.



Prancha IX — Conteúdo de glândulas salivares de *R. ecuadoriensis* experimentalmente infectados com *T. rangeli*. Fig. 13 — Massa de epimastigotas, alguns em divisão. Fig. 14 — Aparente arredondamento gradual dos epimastigotas e ativa multiplicação. Fig. 15 — Célula glandular com o citoplasma apresentando grande quantidade de "esferomastigotas", alguns em transição para tripomastigotas metacíclicos. Fig. 16 — Tripomastigotas metacíclicos. 1.500 x.

as massas se destacariam epimastigotas que poderiam evoluir extra ou intracelularmente. Os epimastigotas poderiam originar tripomastigotas longos que são frequentemente encontrados na hemolinfa (Prancha I, Figs. 8-14; Prancha VII, Fig. 6).

Quase paralelamente à fase anterior se desenvolve a fase intra-hemocitária, observando-se a presença de tripomastigotas e/ou epimastigotas no interior dos hemócitos (Prancha III, Figs. 1-3; Prancha IV, Fig. 1; Prancha VIII, Fig. 7). Posteriormente, esses flagelados sofrem processo de "enrolamento", apresentando um flagelo nítido que percorre internamente o citoplasma do parasita e frequentemente se exterioriza contornando o flagelado (Prancha III, Figs. 4, 5 e 6; Prancha IV, Figs. 3, 4 e 5; Prancha VIII, Fig. 9); essas formas aparentemente se dividem no interior das células hemocitárias (Prancha III, Fig. 7; Prancha IV, Fig. 2; Prancha VIII, Fig. 8). O passo evolutivo seguinte parece ser a formação de um vacúolo nos "esferomastigotas" que gradualmente aumenta de tamanho (Prancha IV, Figs. 4 e 6; Prancha VIII, Figs. 10-11) até se romper e dar origem a típicos tripomastigotas metacíclicos (Prancha IV, Figs. 6 e 7; Prancha VIII, Fig. 12), que seriam então liberados na hemolinfa depois da ruptura das células hemolinfáticas.

Na Prancha V representamos esquematicamente nosso conceito da provável seqüência do desenvolvimento do *T. rangeli* na hemolinfa de *R. ecuadoriensis*. Com certa freqüência são observados hemócitos apresentando grande número de epimastigotas no citoplasma. Não fomos capazes de caracterizar a provável seqüência evolutiva dessas formas e nem verificar se elas dariam origem a tripomastigotas metacíclicos, já que nunca encontramos hemócitos contendo grande quantidade de tripomastigotas metacíclicos, o que sugeriria sua origem a partir dos epimastigotas. Não foi igualmente possível esclarecer qual das formas encontradas na hemolinfa — epimastigotas, tripomastigotas longos ou tripomastigotas metacíclicos — seria responsável pela invasão das glândulas salivares.

## 2) Desenvolvimento nas glândulas salivares

Em esfregaços de glândulas salivares recentemente invadidas é possível verificar, no citoplasma das células glandulares, uma grande quantidade de epimastigotas curtos (Prancha VI, Figs. 1-4), muitos deles alargados, em ativa reprodução e que acabam por encher totalmente o citoplasma das células (Prancha IX, Figs. 13-14). Formam-se em seguida parasitas arredondados, providos de flagelo, que tendem a criar um vacúolo, o qual, ao romper-se, origina um tripomastigota metacíclico. Esse processo é, aparentemente, muito semelhante ao que se observa no interior dos hemócitos e que já foi descrito (Prancha VI, Figs. 5-25; Prancha IX, Fig. 15).

Os tripomastigotas metacíclicos são lançados ao lúmen da glândula e são vistos formando pequenos "clusters" (Prancha IX, Fig. 16). Pensamos que eles podem reproduzir-se por divisão binária, já que não é raro surpreender-se formas providas de dois cinetoplastos e dois núcleos, o que sugere fortemente esse tipo de multiplicação (Prancha VI, Figs. 26-30).

## DISCUSSÃO

A maior parte das investigações sobre infecções experimentais de *T. rangeli* na hemolinfa e glândulas salivares de diversas espécies de triatomíneos têm sido efetuadas tendo, como objetivo principal, a investigação da capacidade dos insetos em atuar como hospedeiro ou vectores do parasita. Estudos sobre o desenvolvimento do *T. rangeli* na hemolinfa e nas glândulas salivares foram iniciadas por GROOT<sup>7</sup> que, pela primeira vez, descreveu os aspectos morfológicos do *T. rangeli* em *R. prolixus*. Nas infecções hemolinfáticas precoces, assinalou o Autor epimastigotas curtos e formas "tipo-leptomonas" que predominavam sobre os tripomastigotas; essas últimas formas posteriormente aumentavam de número; os parasitas eram encontrados livres na hemolinfa e, em algumas ocasiões, no interior de células hemolinfáticas. Posteriormente, segundo ZELEDÓN<sup>17</sup>,

Groot refere que nas glândulas salivares recentemente infectadas se apresentam exclusivamente elementos "leishmanioides", formas que correspondem a promastigotas, epimastigotas de vários aspectos, formas reprodutivas de aspecto irregular e tripomastigotas longos; nas glândulas salivares somente mais tarde se encontram os tripomastigotas metacíclicos. Mais recentemente, TOBIE<sup>14</sup>, estudando o desenvolvimento de *T. rangeli* na hemolinfa de *R. prolixus* infectados por inoculação de formas de cultura na hemocele, postula um ciclo segundo o qual o parasita passa por uma fase intracelular e outra extracelular. Em nosso trabalho confirmamos essas duas localizações do flagelado durante a sua evolução na hemocele de *R. ecuadoriensis*. A despeito da preconizada atividade fagocitária dos hemócitos<sup>16</sup>, o parasita evolui e se multiplica no interior dessas células de acordo com as observações já assinaladas por TOBIE<sup>13, 14</sup>. Aliás, a existência de formas livres e intracelulares do parasita já havia sido sugerida por COUTINHO & NUSSENZWEIG<sup>2</sup> nos seus estudos experimentais com uma cepa venezuelana de *T. rangeli*. Em relação às formas intracelulares, as nossas observações divergem das de GREWAL<sup>6</sup> e TOBIE<sup>13, 14</sup>, que consideram as formas encontradas no interior dos hemócitos como amastigotas; nos nossos achados, assim como nos de COUTINHO & NUSSENZWEIG<sup>2</sup>, as formas citadas são arredondadas e apresentam um flagelo que não somente contorna o parasita como, em preparações bem coradas, tem um nítido trajeto intracitoplasmático. Em nossa opinião, a denominação mais adequada para essas formas seria, provavelmente, a de "esferomastigotas", de acordo com a sugestão de BRACK<sup>1</sup>.

Em nosso trabalho sugerimos a origem intracelular dos tripomastigotas metacíclicos presentes na hemolinfa, a partir da diferenciação dos esferomastigotas, em contraposição à origem extracelular que TOBIE<sup>14</sup> sugere e que se faria por diferenciação dos pequenos epimastigotas liberados pelos hemócitos na hemolinfa. Por outro lado, novamente divergindo de Tobie, não consideramos que os amastigotas constituam o estágio

principal de divisão na hemocele, já que observamos grande quantidade de epimastigotas, em evidente divisão múltipla, livremente disseminados na hemolinfa durante o transcurso da infecção, fato também assinalado por WATKINS<sup>15</sup>. É possível que essa discordância de interpretação derive da diversidade de métodos empregados, já que a inoculação de formas de cultura na hemocele, conforme faz TOBIE<sup>14</sup>, pode resultar em um desenvolvimento diferente daquele encontrado em insetos infectados por via natural, que constitui o nosso material de estudo.

Desconhecemos, até agora, os fatores que atuariam influenciando a seqüência de diferenciação e multiplicação do *T. rangeli* na hemocele de triatomíneos. Poderia ser investigado o papel desempenhado pelas distintas cepas de *T. rangeli*, espécie e estádios dos triatomíneos, tipo de alimentação utilizado como repasto, temperatura, umidade relativa, etc. Estudos dos componentes protéicos da hemolinfa de várias espécies de triatomíneos normais e infectados já foram realizados, observando-se diferenças quantitativas e qualitativas<sup>18, 11</sup>.

O desenvolvimento do *T. rangeli* nas glândulas salivares de triatomíneos tem sido estudado, de modo sucinto, por diversos Autores<sup>12, 7, 16, 5, 6, 17, 8, 19, 15</sup>. Em alguns desses trabalhos se assinala a existência de formas evolutivas no citoplasma das células glandulares<sup>6, 14</sup>. WATKINS<sup>15</sup> descreve epimastigotas amastigotas e formas "enroladas" reproduzindo-se por divisão binária ou múltipla, enchendo rapidamente o citoplasma das células glandulares. Outros investigadores, como GROOT<sup>7</sup>, descrevem a presença de "elementos leishmanioides", ou como HERRER<sup>8</sup>, assinalam formas de reprodução do parasita no interior das células das glândulas salivares e que foram consideradas por esse Autor como amastigotas. Nossas observações demonstram que, em material obtido de insetos com invasão muito precoce das glândulas salivares, é possível encontrar, no citoplasma das células, epimastigotas em diversas fases de multiplicação e "esferomastigotas" intracelulares a partir dos quais aparentemente se diferenciariam os tripomastigotas

metacíclicos. Temos também a impressão, como GROOT<sup>7</sup>, que na luz das glândulas salivares de insetos que previamente haviam transmitido, em diferentes ocasiões, a infecção por picada, a imensa maioria dos flagelados era constituída por tripomastigotas metacíclicos.

#### SUMMARY

*Studies on a Peruvian strain of Trypanosoma rangeli. IV — Observations on its development and morphogenesis in the haemocoel and salivary glands of Rhodnius ecuadoriensis*

Development of a Peruvian strain of *Trypanosoma rangeli* in the haemocoel and salivary glands of *Rhodnius ecuadoriensis* was studied in the laboratory. The flagellate was cyclically in guinea pigs and the triatomine in the following way: triatomine-guinea pig-triatomine.

From the data obtained, the following development cycles in the insect vector are suggested: a) After crossing the wall of the intestine and entering the haemocoel, the flagellates may develop either in the haemolymph (extracellular) or within the haemocytes (intracellular). In the former case, stumpy epimastigotes divide to form clusters of individuals which then separate to either produce long trypomastigotes, or undergo a further multiplication resulting in large masses of epimastigotes. In the case of the intracellular cycle either trypomastigotes or epimastigotes penetrate the haemocytes where they become sphaeromastigotes which then divide. Metacyclic trypomastigotes are then formed by a process of vacuolisation and "unravelling" of the divide sphaeromastigotes. These rupture the haemocytes and enter the haemolymph; b) In the salivary glands, active division of epimastigotes probably occurs within the gland cells. The sphaeromastigotes, so formed, then develop into metacyclic trypomastigotes by the same process that occurs in the haemocytes.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRACK, C. — Elektronmikroskopische Untersuchungen zum Lebenszyklus von *Trypanosoma cruzi* — Unter besonderer Berücksichtigung der Entwicklungsformen im Überträger *Rhodnius prolixus*. *Acta Trop.* 25: 289-356, 1968.
2. COUTINHO, J. O. & NUSSENZWEIG, V. — Infecção experimental de triatomíneos pelo *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920. *Fol. Clin. Biol.* 18:181-188, 1952.
3. CUBA, C.; MORALES, N.; FERNANDEZ, E. & FERNANDEZ, W. — Hallazgo de *Rhodnius ecuadoriensis* Lent & León, 1958, infectados naturalmente por trypanosomas semejantes a *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920 en caseríos del distrito de Cascas, Contumazá, Depto. de Cajamarca, Peru. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 14:191-202, 1972.
4. D'ALESSANDRO, A. — Technique of hemolymph examination to detect *Trypanosoma rangeli* in triatomid bugs. *Proc. VII Intern. Congr. Trop. Med. Malaria*, Rio de Janeiro, 1963, 2:247, 1964.
5. GREWAL, M. S. — *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920 in its vertebrate and invertebrate hosts. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 50:301-302, 1956.
6. GREWAL, M. S. — Pathogenicity of *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920 in the invertebrate host. *Exp. Parasitol.* 6:123-130, 1957.
7. GROOT, H. — Further observations on *Trypanosoma ariarii* of Colombia, South America. *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.* 1:585-592, 1952.
8. HERRER, A. — Reproducción de un *Trypanosoma* tipo *rangeli* a nivel de la glándula salivar del *Rhodnius ecuadoriensis*. *Arch. Peruanos Pat. Clin.* 18:251-254, 1964.
9. IKITAWA, O. & OGURA, Y. — The Feulgen reaction after hydrolysis at room temperature. *Stain Tech.* 29:13-15, 1954.
10. ORMEROD, W. E. — The effect of *Trypanosoma rangeli* on the concentration of aminoacids in the hemolymph of *Rhodnius prolixus*. *J. Invertebrate Pathol.* 9:247-255, 1967.
11. PERASSI, R. — Protein components of the haemolymph of triatomid bugs (Hemiptera: Reduviidae) W.H.O. / *Tryp.* / 72-38. Original: Spanish 1-7, 1972.

---

CUBA, C. A. C. — Estudo de uma cepa peruana de *Trypanosoma rangeli*. IV — Observações sobre sua evolução e morfogênese na hemocele e nas glândulas salivares de *Rhodnius ecuadoriensis*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 17:283-297, 1975.

---

12. 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. Med.* 1:153-158, 1949.
13. TOBIE, E. J. — Fate of some culture flagellates in the hemocoel of *Rhodnius prolixus*. *J. Parasitol.* 54:1040-1046, 1968.
14. TOBIE, E. J. — Observations on the development of *Trypanosoma rangeli* in the hemocoel of *Rhodnius prolixus*. *J. Invertebrate Pathol.* 15:118-125, 1970.
15. WATKINS, R. — Histology of *Rhodnius prolixus* infected with *Trypanosoma rangeli*. *J. Invertebrate Pathol.* 17:55-56, 1971.
16. ZELEDON, R. — Tripanosomiasis rangeli. *Rev. Biol. Trop.* 2:231-268, 1954.
17. ZELEDON, R. — Hallazgo de formas evolutivas de *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1919, en glândulas salivares de *Rhodnius prolixus* Stal, 1859, salvadoreños. *Rev. Biol. Trop.* 4:1-8, 1956.
18. ZELEDON, R. & MORUA, E. I. — Análisis electroforético de la hemolinfa de algunas especies de triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae). *Rev. Biol. Trop.* 11:185-195, 1963.
19. ZELEDON, R. — *Trypanosoma rangeli* en glândulas salivares de *Rhodnius pallescens* de Panamá. *Rev. Biol. Trop.* 13:157-159, 1965.

Recebido para publicação em 14/8/1974.