

## NUEVOS ESTUDIOS COMPARATIVOS ENTRE *DIPETALOGASTER MAXIMUS* Y *TRITOMA INFESTANS* EN EL XENODIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN CHAGÁSICA CRÓNICA HUMANA

César A. CUBA CUBA (1), Nelson J. ALVARENGA (3), Air C. BARRETTO (1), Philip D.  
MARSDEN (1) y Celso CHIARINI (2)

### R E S U M E N

En el estudio de la infección de 38 pacientes chagásicos crónicos a través de la técnica del xenodiagnóstico, en que fueron empleadas comparativamente las especies, *Dipetalogaster maximus* y *Triatoma infestans*, los Autores obtuvieron los siguientes resultados: Diez ninfas III de *D. maximus* diagnosticaron 25 (65.7%) de los pacientes estudiados cuando comparados con cuarenta ninfas III de *T. infestans* que positivarón 23 (60.5%) de los enfermos, presentando de ésta forma similar comportamiento diagnóstico. También, diez ninfas III de *D. maximus* demostraron una mayor capacidad para adquirir la infección por el *Trypanosoma cruzi* (36% de los ejemplares) que cuarenta ninfas III de *T. infestans* (10.5% de los especímenes). En el presente estudio no fué posible relacionar éste hecho con el mayor volumen de sangre (469 mg, em media) ingerida por las ninfas III de *D. maximus*. Sin embargo ésta mayor sensibilidad tiene la ventaja práctica obvia de reducir el número de triatomíneos requeridos para la práctica del xenodiagnóstico. Así mismo, en base de los resultados obtenidos, es sugerida la posibilidad del empleo de las ninfas I de *D. maximus*, pocos días después de su eclosión, con lógica economía en la criación y mantenimiento de los insectos en el laboratorio. Estudios en una área endémica de la Enfermedad de Chagas, localizada en Goiás, Brasil, se encuentran actualmente en desarrollo empleando, comparativamente, *D. maximus* y *T. infestans*.

### I N T R O D U C C I Ó N

La utilización del xenodiagnóstico, como método de comprobación parasitológica de la infección chagásica crónica humana, ha merecido diversos estudios en la tentativa de su padronización, particularmente en relación al ensayo, evolución y control de tratamiento con drogas antiparasitarias 3,9,10.

La base biológica de la técnica es siempre la misma, pero el número de insectos utilizados es muy variable. La idea fundamental ya

establecida es que, el incremento del número de ninfas de las especies de triatomíneos empleadas, estaría directamente relacionado con un incremento en la positividad de la prueba diagnóstica, que fluctúa entre 46% a 69.1%, en las observaciones realizadas por diversos Autores 3,10,11.

Un giro interesante en las investigaciones de la práctica del xenodiagnóstico fué, el de emplear triatomíneos de mayor tamaño y

Trabajo realizado con la ayuda del Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) Brasil. Auxílio 2554/75 y del Ministério de la Salud del Brasil

(1) Profesores de la Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade de Brasília, Brasília, D.F. — Brasil

(2) Profesor del Instituto de Ciências Exatas. Universidade de Brasília. Brasília, D.F. — Brasil

(3) Profesor del Instituto de Biología — Universidade de Brasília. Brasília, D.F. — Brasil

por consiguiente mayor capacidad de ingestión de sangre, en la infección chagásica crónica<sup>8</sup>.

Muy recientemente BARRETTO & col.<sup>2</sup> comprueban dos hechos fundamentales, relacionados con el xenodiagnóstico, en el comportamiento de *Dipetalogaster maximus*: a) La especie es susceptible a la infección por diversas cepas del *Trypanosoma cruzi*; b) Un estudio comparativo entre *D. maximus* y *Triatoma infestans* de Goiás, Brasil, mostró que, a pesar de ambas especies detectar el mismo número de pacientes chagásicos crónicos, el número de *D. maximus* infectados fué significativamente mayor, en las mismas condiciones experimentales.

Estimulados por esos resultados, fué continuado el estudio de padronización del xenodiagnóstico en pacientes chagásicos crónicos, con el concurso de *D. maximus*, diseñándose otras experiencias que pretendían demostrar: 1) El grado de infección de las ninfas I y III de *D. maximus* y su valor diagnóstico comparativo con las ninfas III de *T. infestans*; 2) Cantidad de sangre ingerida por las ninfas de ambas especies de triatomíneos cuando alimentadas en los pacientes y su probable correlación con la infección de los insectos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Triatomíneos

En ésta experiencia fueron utilizadas las especies *D. maximus* y *T. infestans* de las colonias de insectos mantenidas en éste laboratorio y cuyas orígenes son descritas por BARRETTO & col.<sup>2</sup>.

### Pacientes seleccionados

38 Pacientes chagásicos crónicos residentes en São Felipe, Bahia, Brasil, área altamente endémica para la Enfermedad de Chagas, fueron seleccionados, tomando como criterio el de tener, por lo menos, un xenodiagnóstico positivo en alguna oportunidad.

### Esquema de la experiencia

En observaciones previas fué comprobado que las ninfas I de *D. maximus* succionan en

media 70 mg de sangre y la ninfa III, del mismo insecto, 429 mg, cuando alimentadas en gallinas. Por otro lado se sabe que la ninfa III de *T. infestans* succiona entre 77 mg (SZUMLEWICZ<sup>12</sup>) y 101 mg (CERISOLA & col.<sup>3</sup>).

Así, se utilizó entonces, 10 ninfas I de *D. maximus*, que succionan cantidad de sangre similar a 10 ninfas III de *T. infestans*; 10 ninfas III de *D. maximus* que ingieren el equivalente aproximado a 40 ninfas III de *T. infestans*. Para cada paciente fueron aplicados un conjunto de 60 triatomíneos distribuidos en 7 cajitas plásticas utilizándose 10 ninfas de primer estadio (NI) y 10 de tercer estadio (N III) de *D. maximus* y 40 ninfas de tercer estadio (N III) de *T. infestans*. Los insectos fueron expuestos simultáneamente, en los brazos y piernas de cada uno de los pacientes, durante 30 a 40 minutos.

Antes e inmediatamente después de la aplicación del xenodiagnóstico, en cada paciente, se pesaron las cajitas en balanza Sartorius (USA, capacidad 0.001-160 g), con la finalidad de comprobar el volumen de sangre ingerido por los insectos; posteriormente identificáronse el número de los que evidentemente se alimentaron, anotándose los datos de peso, insectos alimentados e identificación del paciente en cada cajita. Los xenodiagnósticos fueron trasladados en avión del área de estudio para Brasilia y mantenidos, entre 28-30°C con aproximadamente 50% de humedad relativa, hasta el momento de su examen. Los estudios comparativos a realizarse fueron los siguientes:

- 10 ninfas I de *D. maximus* (1), frente a 10 ninfas III de *T. infestans* (3).
- 10 ninfas III de *D. maximus* (2), frente a 40 ninfas III de *T. infestans* (4).
- 10 ninfas III de *D. maximus* (2), frente a 10 ninfas III de *T. infestans* (3).
- 10 ninfas III de *D. maximus* (2), frente a 10 ninfas I de la misma especie (1).

### Examen de los triatomíneos

Fué realizado un sólo examen de los insectos entre los 25 y 60 días de su exposición en los 38 pacientes. Las dos especies de triato-

minos fueron observadas al mismo tiempo en cada xenodiagnóstico examinado. Para cada insecto se hicieron preparaciones de una gota de heces, cuya lámina era examinada por 5 minutos como mínimo; si negativa, era nuevamente examinada por un segundo microscopista. Si la negatividad del examen persistiese, el insecto era disectado para la observación de la totalidad del contenido del intestino medio y posterior. El material obtenido de las ninfas III de *D. maximus* fué observado con laminillas 24 x 32 mm., realizándose también una revisión por un segundo microscopista, en caso de ausencia de parasitismo.

Una cajita de 10 ninfas III de *T. infestans* fué retirada al acaso y utilizada como unidad de comparación para las observaciones: (1) y (3) y (2) y (3).

#### Cálculos estadísticos

Los datos obtenidos fueron analizados aplicándose un test de diferencia entre dos proporciones, a un nivel de significación de  $\alpha = 0.05$ , en que se utiliza, para indicar la divergencia, la variable aleatoria:

$$z = \frac{P_1 - P_2}{\sqrt{\hat{p}(1 - \hat{p}) \left( \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}, \text{ donde}$$

$$\hat{p} = \frac{n_1 P_1 + n_2 P_2}{n_1 + n_2},$$

que podrá ser comparado con el valor de la Tabla de distribución normal.

El Centro de Processamento de Dados y el Departamento de Estatística de la Universidade de Brasília, colaborará en el estudio de los resultados.

#### RESULTADOS

De 38 pacientes chagásicos crónicos seleccionados, por tener al menos un xenodiagnóstico positivo en anterior oportunidad, la especie *D. maximus* (Ninfas III) diagnosticó 25 (65.7%) y la especie *T. infestans* 23 (60.5%)

de los pacientes estudiados (TABLA I). Las dos proporciones no difieren significativamente en la muestra seleccionada, estableciendo igualdad de comportamiento diagnóstico de las especies de triatomos empleadas. Del total de 30 (78.9%) xenodiagnósticos positivos, *D. maximus* positivó 7 (18%) de casos negativos para *T. infestans* y a su vez, ésta última especie positivó 5 (15%) de casos negativos para el *D. maximus*.

Cuando comparamos la conducta, en el diagnóstico, de las especies por grupos de ninfas empleadas verificamos, en la misma Tabla I que:

10 Ninfas III de *D. maximus* resultaron igualmente sensibles que 40 ninfas III de *T. infestans* para el diagnóstico de los chagásicos crónicos estudiados y significativamente superiores a 10 ninfas III de *T. infestans* y a 10 ninfas I de *D. maximus*. Así mismo, 10 ninfas I de *D. maximus* diagnosticaron prácticamente igual proporción de enfermos que 10 ninfas III de *T. infestans*.

Por otro lado, significativamente mayor proporción de pacientes fueron diagnosticados cuando se emplearon 40 ninfas III de *T. infestans* comparadas con 10 ninfas del mismo estadio ninfal de la especie. Hubo pues un incremento de 18.4% de casos positivados.

#### En relación a la sensibilidad de infección de las especies y estadios ninfales de los insectos empleados en los xenodiagnósticos

Cuando comparamos la positividad de los estadios ninfales de las especies de triatomos utilizados al *Trypanosoma cruzi* observamos lo siguiente: (TABLA II).

Los grupos de 10 especímenes de ninfas I de *D. maximus* mostraron una infectividad semejante a los grupos de 10 ninfas III de *T. infestans* (14.6% de 322; 11.1% de 334 insectos, respectivamente) pero hubo diferencia significativa, tomando en consideración la cantidad de insectos examinados, cuando se comparó los grupos de 10 ninfas I de *D. maximus* con los de 40 ninfas III de *T. infestans*. Por otro lado no fué observada diferencia entre la infectividad de las ninfas III de *T. infestans* (grupos de 10 y 40 insectos).

T A B L A I

Resultados comparativos de la positividad de los xenodiagnósticos efectuados con *Dipetalogaster maximus* I y III y *Triatoma infestans* III en 38 pacientes chagásicos crónicos

<i>Dipetalogaster maximus</i>				<i>Triatoma infestans</i>			
10 Ninfas I		10 Ninfas III		10 Ninfas III		40 Ninfas III	
Nº Casos Positivos	(%)	Nº Casos Positivos	(%)	Nº Casos Positivos	(%)	Nº Casos Positivos	(%)
(1)	(2)	(3)	(4)	(3)	(4)	(3)	(4)
1 2	(31.5)	2 5	(65.7)	1 6	(42.1)	2 3	(60.5)

Significación estadística entre las proporciones:

- (2) y (4) No difieren significativamente
- (1) y (3)
- (2) y (3); (2) y (1): Difieren significativamente ( $P < 0.05$ )
- (3) y (4): Difieren significativamente ( $P < 0.1$ )

T A B L A II

Estudio comparativo de la infección de estadios ninfales de *Dipetalogaster maximus* y *Triatoma infestans* por *Trypanosoma cruzi* en 38 pacientes chagásicos crónicos

<i>Dipetalogaster maximus</i>			<i>Triatoma infestans</i>								
Ninfas I(*)			Ninfas III(*)			Ninfas III(*)			Ninfas III(**)		
Nº examinados	Nº Positivos	(%)	Nº examinados	Nº Positivos	(%)	Nº examinados	Nº Positivos	(%)	Nº examinados	Nº Positivos	(%)
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)
322	47	(14.6)	361	130	(36.0)	334	37	(11.1)	1267	134	(10.5)

Significación estadística entre las proporciones:

- (2) y (1) : Difieren significativamente ( $P < 0.05$ )
- (2) y (3)
- (2) y (4): Difieren significativamente ( $P < 0.05$ )
- (1) y (3): No difieren significativamente
- (1) y (4): Difieren significativamente ( $P < 0.05$ )
- (3) y (4): No difieren significativamente

(\*) Grupos de 10 ninfas

(\*\*) Grupos de 10 ninfas

T A B L A III

Media de sangre ingerida por *Dipetalogaster maximus* y *Triatoma infestans* cuando empleados en el xenodiagnóstico de 38 pacientes chagásicos crónicos

Triatominos	Nº de insectos alimentados	Cantidad de sangre ingerida (mg)±			
		Mínima	Máxima	Méda	Error Standar
<b>T. infestans</b> (N III)	1267	31	81	53.1	68.27
<b>D. maximus</b> (N I)	336	45	107	93.8	10.08
(N III)	362	247	664	469.4	32.61

(+) Determinada por substraer el peso antes de la alimentación, del peso determinado inmediatamente después de la succión en el paciente.

### Mé debate de sangre ingerida y positividad de los insectos

La TABLA III presenta las medias de sangre ingeridas por los triatomos empleados. La ninfa I de *D. maximus* succionó 93.8 mg superando a la ninfa III de *T. infestans* (53.1 mg). La ninfa III de *D. maximus* ingirió 469.4 mg, aproximadamente 8.5 veces a más que la ninfa III de *T. infestans*.

8.4% De los *D. maximus* ninfa I, 4.7% de los *D. maximus* ninfa III y 17.8% de los *T. infestans* ninfa III no se alimentaron en el momento de aplicar los xenodiagnósticos. Se debe anotar que, a pesar de ofrecerse condiciones idénticas para succionar a ambas especies de triatomos, cierto grupo de *T. infestans* tuvieron alguna dificultad de alimentarse, probablemente por haberse usado inicialmente, papel de filtro revistiendo el fondo de la cajita plástica, permitiendo, a veces, que los insectos se localizasen debajo del mismo.

Como uno de los requisitos básicos en la práctica del xenodiagnóstico es que las especies se alimenten fácilmente, los estadios ninfales I y III de *D. maximus* testados, mostráronse altamente eficientes desde éste punto de vista.

Cuando se tentó correlacionar las variables estudiadas: cantidad de sangre ingerida (1), proporción de insectos que se alimentaron (2), proporción de insectos positivos (3) y el producto de (1) x (2), en los 38 elementos de la muestra, teniendo como hipótesis correlación nula, el límite máximo para el coeficiente de correlación fué de 0.31, a un nivel de significación de 2.5%. Se concluyó que las variables investigadas no están correlacionadas en la muestra analizada. Así mismo, ese bajo coeficiente de correlación resultante no permitió efectuar un estudio de regresión.

### DISCUSIÓN

En la procura de mejorar la sensibilidad del método del xenodiagnóstico en la Enfermedad de Chagas, se ha utilizado especies de triatomos que regionalmente constituyen el transmisor habitual de la enfermedad (DIAS<sup>4</sup>), se ha aumentado el número de insectos que deben ser aplicados simultánea-

mente en cada paciente (SCHENONE & col. 10, 11; CERISOLA & col. 3) y últimamente, se están utilizando triatomos de gran tamaño que lógicamente ingieren mayor volúmenes de sangre y sean susceptibles a la infección por el *Trypanosoma cruzi* (PIFANO & col. 8).

La opinión generalizada es que un xenodiagnóstico consiste entonces en la aplicación simultánea de un número elevado de insectos. Esto se hace más patente cuando se estudian pacientes en la fase crónica de la enfermedad, con escaso número de parásitos circulantes y en la que es lógico pensar que si se aumenta el volumen de sangre examinada, lo que es posible elevando el número de los insectos, mayor será la oportunidad de detectar los parásitos.

Muy recientemente BARRETTO & col. 2 estudiaron, en forma comparativa, *Triatoma infestans* y *Dipetalogaster maximus*, empleando las ninfas IV y V de ambas especies, obteniendo éxito en la infección de *D. maximus* por diversas cepas de *Trypanosoma cruzi* y demostrando su gran sensibilidad en la práctica del xenodiagnóstico de pacientes chagásicos crónicos (87.5% de positividad demostrada por ambas especies). Yá PIFANO & col. 8 habian observado en sus estudios comparativos de 12 *Rhodnius prolixus* y 6 *Triatoma pallidipennis* que, no obstante utilizar la mitad de los ejemplares del triatomo de mayor tamaño con relación al número de *R. prolixus*, la positividad del xenodiagnóstico en la casuística venezolana fué de 26.48% diagnósticos positivos por *R. prolixus* y 35.15% por el *T. pallidipennis*.

La posibilidad de reducir el número de insectos que actualmente son utilizados en la práctica del xenodiagnóstico, sin bajar el rendimiento de la positividad de la prueba, sugerida por BARRETTO & col. 2, nos hizo pensar en el empleo de un número adecuado de *D. maximus* que pudiesen ingerir volúmenes de sangre, aproximadamente igual a 40 ninfas III de *T. infestans*, en base a los resultados de ingesta promedio de sangre de los diferentes estadios ninfales de las dos especies de triatomos, obtenidos en éste laboratorio. La presunción fué, aparentemente, confirmada cuando observamos los resultados de la TABLA I. Efectivamente, 10 ninfas III de *D. maximus* (que ingieren un volumen de sangre total

aproximadamente semejante que 40 ninfas III de *T. infestans*), presentaron básicamente la misma sensibilidad diagnóstica que *T. infestans*, en la muestra estudiada.

Por otro lado cuando se iguala el número de insectos de las especies comparadas (10 ninfas I de *D. maximus* y 10 ninfas III de *T. infestans*) que succionan aproximadamente similar cantidad de sangre, los resultados de infectividad de los insectos y positividad del xenodiagnóstico tenderían a igualarse.

Los hallazgos anteriormente referidos parecerían sugerir fuertemente la hipótesis de que el mayor volumen de sangre ingerida por las ninfas III de *D. maximus*, podría ser uno de los factores que condicionaría su positividad, a pesar de existir experiencias laboratoriales en contrario, como las de MILES & col.<sup>6</sup> que no lograron establecer tal correlación trabajando con otras especies de triatomíneos.

Debido a éste interrogante, sometimos los datos a cálculo de coeficiente de correlación y a test de coeficiente de correlación nula en la población y resultó no siendo posible establecer correlación entre la variable dependiente: proporción de positividad de los insectos y las variables cantidad de sangre ingerida y proporción de los triatomíneos que succionaron, demostrando, en el presente estudio, que otros factores además de los investigados, regulan la infectividad de los triatomíneos al *Trypanosoma cruzi*, cuando son alimentados en pacientes chagásicos crónicos. Por lo tanto no sería, el mayor volumen de sangre succionado por los triatomíneos "el factor más importante del fenómeno" que PIFANO & col.<sup>8</sup> pretenden establecer en su modelo de *R. prolixus* X *Triatoma pallidipennis*, sino que la susceptibilidad al *T. cruzi* estaría íntimamente asociada a factores tales como: características fisiológicas del tubo digestivo del insecto, que permitirían el desarrollo de los pocos tripanosomas ingeridos<sup>1,13</sup>; a la cepa (s) del protozoario, quizá con una mejor adaptación evolutiva para su hospedador invertebrado; edad; sexo de los insectos empleados<sup>1,6,7,13</sup>. Aun más, variaciones de susceptibilidad existentes entre los individuos de una determinada especie de triatomíneo, es más un factor a ser considerado, conforme ha sido demostrado por MAUDLIN<sup>5</sup> con *R. prolixus* y cuyo me-

canismo íntimo estaría regulado genéticamente.

Otros estudios son necesarios para explorar de manera más controlada éste complejo problema, sin embargo algunos resultados prácticos podrían desprenderse de las observaciones efectuadas en el presente trabajo.

La utilización de 10 ninfas III de *D. maximus*, disminuye a 1/4 el total de insectos a ser examinados, sea individualmente o en "pool" de las heces, con obvias ventajas prácticas y economía de tiempo y esfuerzo. Así mismo, las ninfas I de *D. maximus* ofrecerían la posibilidad de ser empleadas directamente en los pacientes, algunos días después de su eclosión de los huevos, sin la necesidad de alimentaciones intermediarias indispensables al desarrollo biológico de las ninfas III y/o IV de *T. infestans* y *R. prolixus*, principalmente utilizadas en los xenodiagnósticos de la infección chagásica crónica.

Reconocemos que la muestra de pacientes por nosotros estudiada es altamente seleccionada, más investigaciones en curso en éste laboratorio, tienden a comprobar el valor de las ninfas I y III de *D. maximus* en la técnica del xenodiagnóstico en áreas endémicas de Enfermedad de Chagas del Estado de Goiás, Brasil.

## SUMMARY

### New comparative studies between *Dipetalogaster maximus* and *Triatoma infestans* in xenodiagnosis of chronic Chagas Disease in man

A study of *Trypanosoma cruzi* infection in 38 patients with chronic Chagas Disease was undertaken using xenodiagnosis. Comparative studies were designed using the species *Dipetalogaster maximus* and *Triatoma infestans*. The following results were obtained.

Ten third instar nymphs of *D. maximus* diagnosed 25 (65.7%) of the patients studied while with forty third instar nymphs of *T. infestans* a similar result was obtained as they diagnosed 23 (60.5%). Ten third instar of *D. maximus* demonstrate a greater capacity to acquire the infection (36% of specimens) than forty third instar of *T. infestans* (10.5% of

specimens). In this study we were not able to relate this advantage to the larger volume of blood (a mean of 469 mg) ingested by this stage of *D. maximus*. However this greater sensitivity has the obvious practical advantage of reducing the number of bugs required for the test of xenodiagnosis.

Also on the basis of the results obtained it seems possible that the use of first instar nymphs of *D. maximus* shortly after hatching will give satisfactory results. This would economise in respect to the culture and maintenance of bugs in the laboratory. Studies in progress in a endemic area of Chagas Disease in Goias, Brazil should clarify further the relative merits of *D. maximus* and *T. infestans* in xenodiagnosis.

#### REFERENCIAS

1. ALMEIDA, S. P.; MILES, M. A. & MARSDEN, P. D. — Verificação da susceptibilidade à infecção por *Trypanosoma cruzi*, dos estágios evolutivos de *Rhodnius neglectus*. *Rev. Brasil. Biol.* 33: 43-52, 1973.
2. BARRETTO, A. C.; MARSDEN, P. D.; CUBA, C. C. & ALVARENGA, N. J. — Estudo preliminar sobre o emprego de *Dipetalogaster maximus* (UHLER, 1894) (Triatominae) na Técnica do Xenodiagnóstico em forma crônica de Doença de Chagas. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* (Em publicação).
3. CERISOLA, J. A.; ROHWEDER, R. W.; SEGURA, E. L.; DEL PRADO, C. E.; ALVAREZ, M. & DE MARTINI, G. J. W. — El Xenodiagnóstico. Monografía. Instituto Nacional de Diagnóstico e Investigación de la Enfermedad de Chagas «Dr. Mario Fatala Chaben». Buenos Aires, Argentina, 1974.
4. DIAS, E. — Técnica do Xenodiagnóstico na moléstia de Chagas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 35: 335-342, 1940.
5. MAUDLIN, I. — Inheritance of susceptibility to *Trypanosoma cruzi* infection in *Rhodnius prolixus*. *Nature* (London) 262: 214-215, 1976.
6. MILES, M. A.; PATTERSON, J. W.; MARSDEN, P. D. & MINTER, D. M. — A comparison of *Rhodnius prolixus*, *Triatoma infestans* and *Panstrongylus megistus* in the xenodiagnosis of a chronic *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* infection in a Rhesus monkey (*Macaca mullatta*). *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.* 69: 377-382, 1975.
7. PHILLIPS, N. R. & BERTRAM, D. S. — Laboratory studies of *Trypanosoma cruzi* infections. In: *Rhodnius prolixus* — Larvae and adults. In: *Triatoma infestans*, *Triatoma protracta* and *T. maculata* — adults. *J. Med. Ent.* 4: 168-174, 1967.
8. PIFANO, F. C.; MORRELL, J. R. & De ORTIZ, M. D. — Estudio comparativo entre el *Rhodnius prolixus* Stal, 1859 y el *Triatoma pallidipennis* (Stal, 1872) Pinto, 1927 en la prueba xenodiagnóstica realizada en casos crónicos de Enfermedad de Chagas. *Arch. Venez. Med. Trop. Parasit. Méd.* 5: 85-94, 1973.
9. SALGADO, A. de A. — Consideraciones sobre Metodología y sensibilidad del xenodiagnóstico. *Bol. Chile. Parasit.* 24: 9-13, 1969.
10. SCHENONE, H.; ALFARO, E.; REYES, J. & TAUCHER, E. — Valor del Xenodiagnóstico en la infección chagásica crónica. *Bol. Chile. Parasit.* 23: 149-154, 1968.
11. SCHENONE, H.; ALFARO, E. & ROJAS, A. — Bases y Rendimiento del Xenodiagnóstico en la infección chagásica humana. *Bol. Chile. Parasit.* 29: 24-26, 1974.
12. SZUMLEWICZ, A. P. — Laboratory Colonies of Triatominae, Biology and Population Dynamics. In: *Proceedings of an International Symposium*. Belo Horizonte, Brazil. Scientific Publication N° 318. P.A.H.O., 1975, pp. 63-82.
13. ZELEDON, R. — Host-Parasite Relationships in the vector. In: *Proceedings of an International Symposium*. Belo Horizonte, Brasil, Scientific Publication N° 318. P.A.H.O., 1975, pp. 9-13.

Recebido para publicação em 5/5/1977.