Contribution à l'étude d'une souche pathogène de *Trypanosoma cruzi*

(SOUCHE TULAHUEN, CHILI)

II. Prémunition croisée entre souches hétérologues

Réveil de l'infection chronique par la cortisone

Par **Henri GALLIARD, Jacques LAPIERRE et Marguerite COSTE**

Les recherches qui font l'objet de cette note ont été faites avec trois souches différentes. Deux sont peu pathogènes : l'une a pour origine Villa-de-Cura (Uruguay), l'autre Romero a été prélevée par xénodiagnostic sur un malade provenant du Vénézuéla. La troisième, très pathogène, est la souche Tulahuen originaire du Chili et isolée de *Triatoma infestans* (voir ce périodique 24, 1962, p.).

Les deux premières souches confèrent à la souris une infection chronique. La souche Tulahuen, au contraire, tue la souris au 17^e jour. Exceptionnellement certaines souris guérissent, ou tout au moins l'infection devient chronique. Sur 282 souris mâles, six ont ainsi survécu (2 %). Cependant, sur 20 femelles, 6 ont guéri.

Réinfection avec la souche Tulahuen de souris primitivement infectées avec la souche Cura

La souche Cura est peu virulente. La parasitémie progresse jusqu'au 30^e jour en moyenne (2 Tryp. par champ objectif : 6, oculaire : 4 Stiasnie) et la guérison apparente se produit en trois mois environ. Il arrive cependant que des taux d'infection plus importants (10 tr./X) soient observés notamment lorsque des passages rapides en série ont été pratiqués auparavant pour exalter la virulence de la souche. Il ne semble pas d'ailleurs, dans ces cas, que l'importance de l'infection ait une influence quelconque sur l'effet protecteur ultérieur.

Les souris ont été réinfectées par la souche Tulahuen dans des délais variant en moyenne (2 Tryp. par champ objectif : 5, oculaire : 4 Stiasnie) et la gué- de 1 à 113 jours : un lot de 23 souris dans un délai de 1 à 21 jours (5 souris après 24 heures, 5 souris après 48 heures, 5 souris après 7 jours, 4 souris après 14 jours, 4 souris après 21 jours).

Un deuxième lot de 5 souris a été réinfecté dans des délais de 78 à 113 jours. Il s'agissait de souris de conservation de souche et que nous avons récupérées pour l'expérience.

Résultats

a) Souris réinfectées après 1 et 2 jours. — Les dix souris sont mortes dans des délais sensiblement égaux, voire même inférieurs à ceux des témoins et avec des taux de parasitémie identiques ou plus élevés que les témoins. Aucun effet protecteur ne s'est donc manifesté.

b) Souris réinfectées au bout de 7 jours. — Les souris sont mortes respectivement les 16^e, 18^e, 25^e, 39^e et 40^e jours, alors que les témoins sont morts les 14^e et 16^e jours. Les taux de parasitémie étaient à peu près semblables. Dans ce cas, un effet protecteur se traduisant par l'allongement net de la survie s'est donc manifesté plusieurs fois.

c) Souris réinfectées au bout de 14 jours. — Lors de la réinfection, le sang ne contenait que de rares Trypanosomes. Deux souris ont survécu 13 et 33 jours (témoins : 19 et 23 jours). Quant aux deux autres (342-345), elles survivent toujours au 93^e jour, apparemment guéries depuis le 62^e jour, après avoir présenté un maximum de parasitémie (3 et 20 Trypanosomes par champ) vers le 15^e jour.

d) Souris réinfectées au bout de 21 jours. — Pour ce lot de quatre souris, l'infection à *Trypanosoma cruzi* (souche Cura) avait été réalisée à partir de déjections de *Rhodnius prolixus* et non pas à l'aide de sang virulent comme dans les cas précédents. Après la surinfection par la souche Tulahuen, les délais de survie ont été relativement courts : 6, 12, 19 et 21 jours.

e) Souris réinfectées dans des délais de 78 à 113 jours. — Lors de la réinfection par la souche Tulahuen de ces cinq souris, on ne retrouvait pas de Trypanosomes (souche Cura) ou dans la proportion de 1 pour 15 ou 1 pour 50 champs microscopiques.

Après la surinfection, le comportement des souris a été différent. Dans deux cas, l'infection a été régulièrement progressive jusqu'à la mort (28^e et 97^e jours) avec trois Trypanosomes par champ. Il n'y eut dans un cas qu'une légère différence avec le témoin mort en 16 jours. Dans un autre cas, le taux de la parasitémie s'est élevé progressivement jusqu'à la fin de la deuxième semaine pour régresser ensuite pendant dix jours puis reprendre et régresser ensuite jusqu'à guérison apparente qui a duré jusqu'au 135^e jour de l'observation. Mais

la parasitémie peut aussi rester faible pendant toute l'évolution (un Trypanosome pour 50 champs), 88 jours dans un cas, 102 jours dans l'autre.

Ainsi, la souche Cura semble protéger la souris pendant un temps assez long. Les délais de survie sont considérablement allongés et les taux de parasitémie faibles lors du décès. Cependant, deux souris réinfestées le 113^e jour se sont comportées différemment, l'une étant stabilisée et toujours vivante le 122^e jour, l'autre étant morte dans un temps relativement court (28 jours). Enfin, une souris réinfestée le 110^e jour est morte très tardivement (97^e jour), mais avec un taux de parasitémie (4 tr./X) qui s'était élevé durant la dizaine de jours précédant le décès.

Réinfection avec la souche Tulahuen de souris infectées primitivement avec la souche Romero

La souche Romero est également peu virulente et l'infection chronique est restée patente, irrégulièrement, pendant sept mois, avec un maximum de deux Trypanosomes par champ.

Les souris ont été réinfestées avec la souche Tulahuen, trois (n^o 43, 45, 46) le 116^e jour et une (n^o 44) le 331^e jour. Chez la souris n^o 43, l'infection consécutive à la réinfestation a été régulièrement ascendante jusqu'au 30^e jour (1 tryp./3 X), puis a régressé avec guérison apparente du 60^e au 340^e jour. Chez deux autres souris (n^o 45 et 46), l'infection a été encore plus faible et l'une est décédée, sans parasitémie, le 171^e jour, l'autre est morte de cachexie sans parasitémie visible le 122^e jour. Mais la souris réinfestée le 331^e jour (n^o 44) a présenté une infection progressive et est morte le 39^e jour avec un parasitisme élevé (7 tryp./X). Le témoin est mort en 18 jours. Il y a donc trois cas de protection totale au bout de 116 jours et un de protection incomplète au bout de 331 jours.

Réinfection avec la souche Cura de souris présentant une infection chronique avec la souche Tulahuen

Nous avons observé quelques cas de guérison apparente chez des souris infectées avec la souche Tulahuen qui est généralement létale 6 cas sur 282. La parasitémie était nulle au moment de la réinfection avec la souche Cura les 109^e, 144^e et 161^e jours. La parasitémie après réinfestation, dans tous les cas, est restée très faible. La mort dans un cas (n^o 119) semble due à l'état cachectique et s'est produite au bout de 31 jours avec faible récurrence (1 tryp./20 X) après disparition momentanée des Trypanosomes. Les trois autres souris étaient vivantes 248 jours après la surinfection.

Ainsi, lorsque l'infection primaire est réalisée avec la souche Tulahuen, on note après réinfection une absence presque complète de parasitémie et une survie générale.

Tableau I
Prémunition croisée entre souches hétérologues de *Trypanosoma cruzi* Passage des souches mixtes sur souris neuves

N°	Souche	Durée de la primo-infection	Souche ayant servi à la réinfection	Durée de survie après réinfection	Parasitémie au moment de la mort Tryp. par champ: oc. 4 × obj. 5	Passage des souches mixtes sur souris neuves		
						Date de l'infection mixte au moment du passage	Durée de survie	Parasitémie au moment de la mort Tryp. par champ: oc. 4 × obj. 5
342	Cura	14 jours	Tulahuen	93 jours	Vivante	—	—	—
345	—	14 jours	—	93 jours	Vivante	—	—	—
48	—	78 jours	—	135 jours	0 Tryp.	—	—	—
258	—	87 jours	—	88 jours	0 Tryp.	30 ^e jour	Vivante le 120 ^e jour	—
47	—	110 jours	—	97 jours	3 Tryp.	—	—	—
96	—	113 jours	—	102 jours	Vivante	40 ^e jour	20 et 21 jours	2 et 3 Tryp.
97	—	113 jours	—	28 jours	3 Tryp.	19 ^e jour	27 jours	10 Tryp.
43	Romero	116 jours	—	214 jours	Vivante	210 ^e jour	35 jours	5 Tryp.
45	—	116 jours	—	122 jours	0 Tryp.	—	—	—
46	—	116 jours	—	171 jours	0 Tryp.	—	—	—
44	—	331 jours	—	39 jours	7 Tryp.	—	—	—
122	Tulahuen	109 jours	Cura	248 jours	Vivante ...	83 ^e jour	Toujours vivante	—
120	—	144 jours	—	248 jours	Vivante	134 ^e jour	Vivante le 105 ^e j.	1 Tryp.
121	—	144 jours	—	248 jours	Vivante	82 ^e jour	76 jours	6 Tryp.
119	—	161 jours	—	31 jours	0,05 Tryp.	62 ^e jour	64 jours	5 Tryp.
						7 ^e jour	26 jours	—

Transfert des infections mixtes à des animaux neufs

A la suite des réinoculations de souris déjà infectées par une souche différente, et le passage de ces infections mixtes à l'état inapparent, nous avons cherché à vérifier si la virulence de la souche Tulahuen était conservée.

Le sang de quatre souris primitivement infectées avec la souche Tulahuen et réinfectées avec la souche Cura, respectivement depuis 7, 62, 82, 83 et 134 jours, a été inoculé à cinq souris neuves. Trois sont mortes en 26, 64 et 76 jours avec forte parasitémie, bien que le sang inoculé ne présentait qu'une infection inapparente ou de l'ordre de 1 tryp./50 X. Quant aux deux autres (inoculées les 83^e et 134^e jours avec le sang de la même souris), l'une est restée négative et l'autre a fait une infection chronique.

De même, à partir de l'infection mixte Cura-Tulahuen, sur quatre souris neuves inoculées, trois sont mortes du 20^e au 27^e jour avec de trois à dix Trypanosomes par champ. L'évolution de la quatrième a été chronique, ainsi que celle d'une cinquième souris inoculée à partir de la précédente.

Dans le cas de l'infection mixte Romero-Tulahuen, une souris neuve inoculée le 210^e jour, alors que la souris donneuse présentait 1 Tryp. pour 30 X, est morte en 35 jours avec de nombreux Trypanosomes dans le sang. Ainsi, la souche Tulahuen a conservé généralement sa virulence. L'évolution chronique observée dans certains cas pourrait être expliquée par le fait que le nombre de parasites inoculés est extrêmement faible. Mais, habituellement, l'évolution de l'infection est sans rapport avec la quantité de l'inoculat.

On peut penser aussi qu'il s'agit de souris ayant présenté une infection chronique, comme nous l'avons observé dans 2 % des cas. Mais il est plus vraisemblable d'envisager une sélection de Trypanosomes portant, dans ces cas, sur la souche avirulente lors de l'inoculation.

Rechutes parasitaires provoquées par la Cortisone

Au cours d'expériences antérieures, nous avons observé que la cortisone aggravait l'évolution des infections aiguës de *T. cruzi* (souche Tulahuen), réduisait la durée de survie. Nous avons cherché à savoir quel serait son effet sur des cas d'infection inapparente, que la chronicité soit due à une infection mixte avec une souche avirulente ou qu'il s'agisse d'une souris exceptionnellement guérie.

Neuf souris infectées avec la souche Tulahuen associée aux souches à Romero ou Cura, depuis 88 à 392 jours, et trois présentant une infection à Tulahuen chronique, depuis 40 à 140 jours, ont reçu de 2 à 12 injections de cortisone de 1 mg. tous les trois jours.

Les récurrences parasitaires se sont produites entre le 5^e et le 11^e jour, sans que la durée de l'infection mixte, avant traitement par la cortisone, ait eu

Tableau II

Rechutes parasitaires provoquées par la cortisone chez des souris mâles apparemment guéries d'infections pures ou mixtes de *T. cruzi*

N° de l'expérience	Souche	Durée de l'infection à Tulahuen avant cortisone	Cortisone		
			Nombre d'injections	Durée de la survie	Parasitémie à la mort (par champ. oc. $\times$ 4, obj. 5)
43	Romero + Tulahuen	214 jours	6	22 jours	20 Tryp.
96	Cura + Tulahuen	102 jours	5	14 jours	10 Tryp.
259 bis	Cura + Tulahuen	88 jours	6	20 jours	1 Tryp.
342	Cura + Tulahuen	93 jours	6	18 jours	5 Tryp.
345	Cura + Tulahuen	93 jours	5	13 jours	10 Tryp.
120	Tulahuen + Cura	392 jours	7	21 jours	0,5 Tryp.
121	Tulahuen + Cura	392 jours	12	Vivante	
122	Tulahuen + Cura	357 jours	7	21 jours	15 Tryp.
179 bis	Tulahuen + Cura	121 jours	3	10 jours	5 Tryp.
79	Tulahuen	40 jours	2	38 jours	0,2 Tryp.
82	Tulahuen	140 jours	4	13 jours	1 Tryp.
86	Tulahuen	130 jours	4	13 jours	5 Tryp.

d'influence sur la précocité de la rechute parasitaire. Par contre, les durées de survie (10 à 38 jours) ont été d'une façon générale plus prolongées chez les souris dont l'infection était plus ancienne. Les taux de parasitémie ont été variables. Dans un cas (n° 79), où les injections de cortisone n'ont pas été poursuivies, la parasitémie a décliné après l'arrêt des injections, mais l'animal est mort, cependant, avec une parasitémie faible, mais appréciable. Mais rappelons qu'avec la souche Tulahuen viscérotrope, les résultats sont difficiles à interpréter en fonction de la seule parasitémie, du fait de l'atteinte hépatique qui peut tuer les souris présentant une parasitémie faible.

En résumé, la cortisone a, dans 11 cas, provoqué la récurrence mortelle de Tulahuen dans des infections datant de 40 à 392 jours.

Dans un 12° cas (121), la souris présentait une infection mixte apparemment guérie depuis 392 jours. La récurrence parasitaire s'est produite dans des délais normaux et a progressé jusqu'au 25° jour (5 Tryp. par champ), puis a régressé et disparu le 45° jour, malgré 12 injections successives de cortisone.

La même expérience a été répétée sur cinq souris femelles apparemment guéries en 70 à 80 jours d'une infection à *T. cruzi* (Tulahuen), dont l'évolution

avait été relativement bénigne. Les injections de cortisone ont été commencées le 86^e jour. Le réveil de l'infection s'est produit du 5^e au 9^e jour. Deux souris sont mortes en 15 et 26 jours après 5 et 8 injections de cortisone avec des parasitémies équivalentes à 2 tryp./X et 1 tryp./2 X.

Chez les trois autres souris, après rechute, la parasitémie est toujours restée faible et a disparu en 45 jours.

Ainsi, deux souris femelles sont mortes et trois ont guéri (tableau III).

Tableau III

Rechutes parasitaires provoquées par la cortisone chez des souris femelles apparemment guéries de l'infection à *T. cruzi* Tulahuen

N° de l'expérience	Souche	Durée de l'infection avant la cortisone	Cortisone		
			Nombre d'injections 1 mgr. tous les 3 jours	Durée de la survie	Parasitémie à la mort
415	<i>Tr. cruzi</i> Tulahuen	86 jours	5	15 jours	2 Tr./X
423	»	86 jours	8	26 jours	1 Tr./2X
411	»	86 jours	8	vivante le 45 ^e jr.	Rechute puis guérison
414	»	86 jours	8	vivante le 45 ^e jr.	Rechute puis guérison
419	»	86 jours	8	vivante le 45 ^e jr.	Rechute puis guérison

Discussion

Les études immunologiques dans les infections à *Trypanosoma cruzi* ont commencé dès la découverte de Chagas. On a reconnu, d'une part, que l'infection guérie spontanément ou après chimiothérapie donnait une prémunition homologue et que, d'autre part, les diverses souches constituaient des biotypes différents, ayant chacun leur rôle pathogène propre, mais qu'il y avait cependant entre elles des rapports immunologiques, antigéniques, étroits.

Muniz et coll. (1946), ainsi que Hauschka et coll. (1950), ont vu que des souris, prémunies avec les formes de culture ou avec des Trypanosomes sanguicoles atténués du fait de la chronicité ou de la chimiothérapie, devenaient réfractaires à la souche homologue létale.

Pizzi et coll. (1952, 1954) chez les souris et Rubio (1959) chez le hamster ont réussi à atténuer une souche par culture et à protéger les animaux contre la souche homologue virulente.

En ce qui concerne l'immunité hétérologue, E. Brumpt montra le premier, en 1913, que des souches différentes pouvaient donner une prémunition croisée partielle chez la souris. Il utilisa une souche non pathogène (Bahia) pour la primo-infection et une souche léthale (Chagas) qui tue tous les témoins en 15 à 25 jours. La moitié des souris prémunies sont mortes au bout de 60 jours, les autres ont survécu et, huit mois après, elles ont résisté à une réinoculation avec la souche pathogène.

Muthar Darman, en 1941, utilisant aussi deux souches différentes, a observé que la résistance homologue est plus forte que l'hétérologue.

Hauschka et coll. (1950), avec sept souches différentes, dont W.B.H. très pathogène, montrent que la prémunition est donnée par des souches peu pathogènes ou les souches pathogènes traitées quand la surinfection est faite entre deux semaines et huit mois. Il n'y a aucun rapport entre l'effet protecteur et la virulence de la souche.

En ce qui concerne la souche Tulahuen, Goble (1959) (8) a étudié chez le chien les rapports immunologiques avec elle et cinq souches du Brésil et des U.S.A.

Chez la souris, les réactions d'immunité croisée entre la souche Tulahuen, hypervirulente, et des souches donnant des infections demeurant toujours chroniques, et d'une durée indéfinie, ont été étudiées par L. Norman et I.-G. Kagan (1960). Ils ont montré que dix souches différentes de *T. cruzi*, sept animales et trois humaines, protégeaient, bien que peu virulentes, les souris contre la souche Tulahuen réinoculée trois à six semaines après.

Dans une seconde série d'expériences, avec les mêmes souris, ces auteurs utilisant la souche Opossum observent que de 2 à 3 jours il n'y a aucune protection, de 4 à 21 jours la protection est partielle et de 28 à 365 jours la protection est totale contre l'action léthale de la souche Tulahuen. D'autre part, l'immunisation des souris peut être produite par du sérum de souris infectées avec la souche Opossum ou de sérum de souris ayant survécu à la surinfection par la souche Tulahuen, à condition que la réinoculation ait lieu peu de temps après le transfert de sérum.

Il nous a paru intéressant de vérifier le pouvoir protecteur des deux souches faiblement pathogènes (Cura et Romero) dont nous disposons vis-à-vis d'une souche virulente Tulahuen. Mais les six souris ayant survécu à l'infection avec la souche Tulahuen nous ont permis de faire l'expérience inverse et de vérifier le comportement de souches peu pathogènes chez des souris guéries d'une trypanosomose virulente, sans qu'il ait été nécessaire de les traiter, ni d'atténuer la virulence par culture.

Nous avons cherché à savoir également si la souche Tulahuen conservait sa virulence malgré cette atténuation par une souche hétérologue ou chez les quelques souris exceptionnellement guéries. Il y avait deux moyens pour le vérifier : tout d'abord d'inoculer le sang de ces souris à des animaux neufs et

aussi d'inhiber les anticorps protecteurs par la cortisone. Les résultats obtenus avec les souris mâles ont démontré dans la plupart des cas le maintien de la virulence.

Par contre, les femelles semblent résister mieux à ces rechutes post-cortisone (3 guérisons sur 5), ce qui était prévisible du fait de leur plus grande résistance à la primo-infection.

Nous insistons cependant sur le fait que, dans le cas de la souche Tulahuen, les résultats sont souvent difficiles à interpréter. En raison de la viscérotropie des *Trypanosomes*, l'absence de parasitémie ne permet pas toujours d'affirmer que, dans les infections chroniques de longue durée, la mort n'est pas due à l'infection.

Résumé

L'immunité hétérologue entre souches de *Trypanosoma cruzi* a été étudiée chez la souris avec trois souches, deux avirulentes, Cura et Romero, l'autre pathogène et viscérotrope, Tulahuen.

La souche Cura ne protège pas la souris contre Tulahuen réinoculée 24 et 48 heures après. A partir de 8 jours, la durée de survie est augmentée ; après 14 jours, il y a guérison apparente dans certains cas.

Par la suite, les souches Cura et Romero protègent contre la surinfection par Tulahuen jusqu'au 331^e jour. Mais l'effet protecteur n'est pas total dans tous les cas et peut ne s'exprimer que par un accroissement de la survie.

Inversement, chez cinq souris exceptionnellement et spontanément guéries d'une primo-infection par Tulahuen, l'état réfractaire contre une souche hétérologue peu pathogène, Cura, a été pratiquement total, car la réinoculation n'a provoqué qu'une parasitémie minime.

La persistance, au cours des infections chroniques, simples ou mixtes, du pouvoir pathogène de la souche Tulahuen a été vérifiée de deux façons. Tout d'abord, le sang de souris avec infection mixte chronique, datant de 210 jours dans un cas, a été inoculé à des souris neuves. Trois sur neuf ont guéri, les autres sont mortes, mais avec une survie prolongée, de 20 à 76 jours, contre 14 à 23 jours chez les témoins.

En second lieu, le traitement par la cortisone (2 à 12 injections de 1 mg. à trois jours d'intervalle) a été donné à 12 souris mâles ayant une infection mixte ou une infection chronique à Tulahuen seule, datant de 40 à 392 jours. La mort a été provoquée onze fois sur douze en 13 à 38 jours, avec une parasitémie le plus souvent élevée. Dans un seul cas, malgré un réveil important de la parasitémie, la souris a guéri, ayant résisté à 12 injections consécutives de cortisone.

Par contre, sur cinq souris femelles apparemment guéries d'une primo-infection par Tulahuen et traitées par la cortisone à partir du 86^e jour, deux sont mortes et trois ont guéri après rechute parasitémique faible.

La souche Tulahuen chez la souris conserve le plus souvent sa virulence, qu'elle soit seule ou associée à une souche avirulente, quelle que soit la durée préalable de l'infection chronique.

Bibliographie

- BRUMPT (E.), 1913. — Immunité partielle dans les infections à *Trypanosoma cruzi*. *Bull. Soc. Path. Exot.*, VI, p. 173.
- BROWNING (C. H.), CALVER (K. M.), LECKIE (M. W.) and WALLIS (L. P.), 1946. — Phenanthridine compounds as chemotherapeutic agents in experimental *Trypanosoma cruzi* infections. *Nature*, 157, 263-264.
- CULBERTSON (J. T.) and KOLODNY (M. H.), 1938. — Acquired immunity in rats against *Trypanosoma cruzi*. *J. Parasitol.*, 24, 83-90.
- DARMAN (Muthar), 1941. — Multiplication de *Trypanosoma cruzi* dans le sang de la souris. Prémunition vis-à-vis des souches homologues et hétérologues. *Ann. Parasit. Hum. et Compar.*, XVIII, p. 166.
- GOBLE (F. C.), 1959. — Observations on cross immunity in experimental Chagas' disease in dogs. *An. Congr. inter. sobre doença de Chagas*, II, p. 3.
- HAUSCHKA (Th. S.), GOODWIN (M. B.), PALMQUIST (J.) and BROWN (E.), 1950. — Immunological relationship between seven strains of *Trypanosoma cruzi* and its application in the diagnosis of Chagas' disease. *Amer. Journ. of Trop. Med.*, 30, 1-16.
- MUNIZ (J.), NOBRÉGA (G.) et DA CUNHA (M.), 1946. — Ensaios de vacinação preventiva e curativa nas infecções pela *Schizotrypanum cruzi*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 44, 529.
- NORMAN (L.) and KAGAN (I. G.), 1960. — Immunologic studies on *Trypanosoma cruzi*. II. Acquired immunity in mice infected with avirulent American strains of *T. cruzi*. *The Journ. of Infect. Dis.*, 107, 168.
- NORMAN (L.) and KAGAN (I. G.), 1960. — Studies on the immunology of experimental Chagas' disease. *The Journ. of Parasit.*, 46, suppl. 2, 44.
- PIZZI (T.) y PRAGER (R.), 1952. — Inmunidad a la sobreinfección inducida mediante cultivos de *Trypanosoma cruzi* de virulencia atenuada. *Bol. Inf. Parasit.*, 7, 20-21.
- PIZZI (T.), RUBIO (M.) and KNIERIM (F.), 1954. — Inmunología de la enfermedad de Chagas. *Boletín Chileno de Parasitología*, IX, 35.
- RUBIO (D. M.), 1959. — Natural and acquired immunity against *Trypanosoma cruzi* in the hamster (*Cricetus auratus*). *Biologica*, Santiago, 27, 28, 116.

(Faculté de Médecine de Paris, Institut de Parasitologie)