

ADQUISICIONES RECIENTES Y PROBLEMAS EN LA PARASITOLOGIA DEL PALUDISMO

Por el Prof. ENRIQUE BELTRAN,
académico de número.

Aunque nuestros conocimientos fundamentales en relación con la parasitología del paludismo, iniciados por Laverán en 1880 con el descubrimiento del germen, se puede decir que están aceptablemente establecidos en sus lineamientos generales desde comienzos del presente siglo, han quedado sin embargo numerosos problemas por resolver, y otros que tienen aspectos dudosos o controversiales. Como recientemente se han hecho importantes contribuciones en algunos de estos aspectos, nos ha parecido conveniente aprovechar la oportunidad ofrecida por el presente simposio, para intentar una breve revista de aquellos campos de la parasitología del paludismo, en los que quedan aún importantes problemas por aclarar. Obligados sin embargo a limitar la extensión de este trabajo, hemos seleccionado solamente cuatro aspectos, que consideramos como los más importantes, y a los que nos referimos a continuación.

RELACIONES DEL GENERO *PLASMODIUM*.—Desde hace largo tiempo se ha aceptado la existencia de la familia Plasmodiidae, conteniendo un sólo género —*Plasmodium*—, con múltiples especies. A la vez, se ha considerado que dentro del mismo suborden Haemosporidia, del orden Haemosporidia, existe otra familia vecina —*Haemoproteidae*—, que contiene dos géneros: *Haemoproteus* y *Leucocytozoon*. Esta colocación sistemática había sido casi unánimemente aceptada, pero en tiempos recientes han surgido algunas objeciones a las relaciones recíprocas de los mencionados géneros.

Las diferencias fundamentales empleadas para justificar la separación de ambas familias se refieren al distinto tipo de células parasitadas en las

diversas etapas del ciclo en el huésped vertebrado, aceptando que la esquizogonia, en la familia Plasmodiidae, se lleva a cabo en los eritrocitos, mientras que en la familia Haemoproteidae se realiza en otras células, especialmente de tipo endotelial. Sin embargo, al establecerse claramente después de los trabajos de James y Tate (1937, 1938) la existencia de formas exoeritrocíticas en el género *Plasmodium*, Corradetti (1938) pensó que no existía ya razón para separar ambas familias, proponiendo unir las en una sola que, por razones de prioridad, debería conservar el nombre Plasmodiidae.

Sin embargo, la mayoría de los autores no han aceptado dicha proposición, considerando que, de todos modos, siguen existiendo diferencias apreciables, pues aunque los plasmodios pueden también llevar a cabo su proceso esquizogónico en células distintas a los eritrocitos, también, sin excepción, lo presentan en éstos; mientras que los miembros de la familia Haemoproteidae nunca muestran tal cosa. Por otra parte, los huéspedes invertebrados de una y otra familias, aunque todos pertenecientes al orden Diptera, son sin embargo, bastante distintos entre sí.

Huff (1938, 1942, 1945), por su parte, ha puesto en duda si la agrupación de *Haemoproteus* y *Leucocytozoon* en una familia, y la separación de *Plasmodium* en otra está realmente justificada, tanto basándose en algunas semejanzas en el ciclo esquizogónico de *Plasmodium* y *Leucocytozoon*, como teniendo en cuenta la mayor cercanía entre los insectos transmisores de estos dos últimos géneros, pertenecientes a la familia Simuliidae, que entre ellos y los transmisores de *Haemoproteus*, que se colocan en la familia Hippoboscidae. Sin embargo, hace notar la posibilidad de que los simúlidos, contra lo que generalmente se acepta, y aunque tal cosa no ha sido demostrada, pueden servir también de huéspedes al género *Haemoproteus*.

Este punto de vista, recientemente resumido por Huff (1949), es muy interesante, pues llama la atención acerca de la importancia que, para resolver los problemas de afinidad taxonómica entre los hemoparásitos de los vertebrados, tiene considerar también las peculiaridades de su ciclo en el huésped invertebrado y las posibles relaciones sistemáticas de los artrópodos que los albergan.

Por su parte, Peláez, Pérez y Barrera (1948) han señalado la posibilidad de que *Plasmodium mexicanum*, parásito en reptiles del género *Sceloporus*, pueda ser transmitido por ácaros (*Histiella* sp.) lo que, de

confirmarse, tendría interesantes repercusiones en el problema que nos ocupa.

Este problema de la posición y relaciones sistemáticas del género *Plasmodium*, del que ya nos hemos ocupado con mayor amplitud en otras ocasiones (Beltrán, 1943, 1944), es muy interesante, y quizá en el futuro puedan contribuir a aclararlo los detalles que se deriven del estudio de las formas exoeritrocíticas, a que nos referiremos más adelante.

DIVERSAS ESPECIES DEL GENERO *PLASMODIUM*.—Se sabe en la actualidad que los miembros de este género parasitan en diversos vertebrados, tanto mamíferos como aves y reptiles. El número de especies reportadas en el género es relativamente grande, aunque en muchos casos se requiere una revisión adecuada y completa para determinar la validez de ciertas especies.

En el hombre, se admite generalmente en la actualidad la existencia de cuatro especies distintas, a las que comúnmente se denomina *Plasmodium vivax*, *P. malariac*, *P. falciparum* y *P. ovale*.

A este respecto, es interesante recordar que Laverán se inclinó fuertemente a considerar a las tres primeras como pertenecientes a la misma especie o, cuando más, formando distintas subespecies. Pero los estudios posteriores, especialmente de la escuela italiana, apoyándose en datos parasitológicos, epidemiológicos y clínicos, vinieron a demostrar claramente la separación de las tres especies. Sin embargo, muchos años después algunos autores (Gros, 1918; Grassi, 1920), basándose en observaciones realizadas durante la primera Guerra Mundial, o en datos derivados de las campañas de saneamiento antipalúdico, volvieron a postular la posibilidad de que existiera en el hombre una sola especie de *Plasmodium*. Tal cosa no fué generalmente aceptada, y Mayne (1920) en un excelente artículo, combatió los argumentos expuestos al respecto. Posteriormente, con la introducción de los métodos de paludoterapia (Wagner-Jauregg, 1918-9) que tantas y tan valiosas adquisiciones han permitido en el conocimiento del paludismo, pudo confirmarse, sin lugar a dudas, la individualidad de las especies.

Cuando Stephens, en 1922, reportó el hallazgo de una nueva especie humana, a la que denominó *Plasmodium ovale*, tal cosa fué recibida con escepticismo, en gran parte justificado, tanto por la rareza de la especie, como por sus características morfológicas y clínicas muy semejantes a las de *P. vivax*. Gracias a nuevos hallazgos del parásito, y sobre todo a los

datos obtenidos en inoculaciones paludoterápicas por James y sus colaboradores en Horton (Inglaterra), la mayoría de los investigadores acabaron por reconocer la validez de la especie. Sin embargo, quedaron algunos que la mantenían en duda, como por ejemplo, Giovanola (1935), que pensaba que sus supuestas características peculiares no eran otra cosa que modificaciones de cepas de *P. vivax*, originadas por larga permanencia en el huésped.

Young y Eyles (1949) han encontrado también en algunas cepas de *Plasmodium vivax* parásitos ocasionales que, por su morfología y número de merozoides, se asemejan fuertemente a *P. ovale*. Los autores no piensan, sin embargo, que esas observaciones sirvan para invalidar a *P. ovale* como buena especie; pero llaman la atención sobre la posibilidad de que algunos supuestos hallazgos de este organismo, hayan podido ser en realidad sólo formas anormales de *P. vivax*.

Hemos querido mencionar las discusiones relacionadas con *P. ovale*, no sólo para afirmar nuestra opinión de que se trata efectivamente de una nueva especie, sino también para señalar lo reciente de su descubrimiento y, en consecuencia, la posibilidad de que en el futuro pueda llegar a encontrarse alguna especie más. En efecto, a pesar de la amplitud de las investigaciones realizadas en el terreno de la epidemiología del paludismo, que han motivado el examen de millones de muestras de sangre, sin encontrar ninguna nueva especie, la posibilidad teórica de que exista alguna más no puede descartarse lógicamente y, en consecuencia, cuando un paludólogo encuentre en sus investigaciones algún parásito que le parezca diferente en algo, por poco que sea, de las especies conocidas, valdrá la pena investigar a fondo el asunto para identificarlo sin lugar a duda dentro de alguna de ellas, o consignarlo como una nueva. No hay que olvidar, sin embargo, las variaciones naturales que suelen encontrarse dentro de una especie, así como la acción que sobre la morfología de los plasmodios ejercen los distintos métodos de preparación o las drogas antipalúdicas, y las confusiones que tales cosas pueden originar en personas sin la suficiente experiencia en la materia.

CITOLOGIA DE LOS PLASMODIOS.—La citología de los plasmodios, conocida aceptablemente en sus lineamientos generales, presenta todavía una serie de puntos oscuros, que ameritan esclarecerse suficientemente. El principal obstáculo que se ha encontrado a este respecto, además de la pequeñez del parásito en algunos de sus estadios, es el empleo

casi exclusivo de frotis secos coloreados con las diversas variaciones del método de Romanowsky, que no siempre permiten una observación fina, y deforman bastante a los plasmodios.

Pawan (1931), Jirovec y Cerny (1932), Breindl y Jirovec (1932) y Missiroli y Mosna (1934) han aplicado la reacción nuclear de Feulgen a *P. vivax*, *P. relictum* y *P. falciparum*, encontrándola positiva en los segmentantes, así como en los oocistos y esporozoides y, a veces, en los esquizontes. Ungo-Mugdan (1938) estudió el mismo asunto en *P. gallinaceum*, y obtuvo resultados negativos en trofozoides, esquizontes y gametocitos, y positivos en segmentantes y formas exoeritrocíticas.

Chen (1944) estudió con técnicas delicadas, y aplicando también el método de Feulgen, el núcleo de *P. elongatum*, encontrando la reacción positiva en todas las etapas del ciclo asexual, inclusive en los trofozoides jóvenes; mientras que era negativa en la mayoría de los gametocitos.

Ioff (1930) investigó cuidadosamente en la sangre las formas sexuales y asexuales de *P. falciparum*, ofreciendo algunas descripciones finas y buenos dibujos, pero sin agregar nada fundamental a nuestros conocimientos en la materia.

Boyd (1935) hizo un estudio comparativo de la morfología de los esporozoides de las tres especies humanas comunes del género *Plasmodium*, ilustrándolo con esquemas en cámara clara. El trabajo es interesante, por que muestra la forma general del esporozoide y el núcleo, pero carece totalmente de detalles estructurales de este último.

Aragao (1934) estudió minuciosamente el desarrollo de los gametocitos de *P. falciparum* desde sus estadios juveniles hasta la producción de gametos, obteniendo interesantes resultados en lo que hace a la morfología general, pero sin suficientes detalles citológicos, especialmente de la estructura nuclear, debido posiblemente al empleo exclusivo de frotis secos.

MacDougall (1947), empleando cuidadosas técnicas en frotis húmedos, ha mostrado interesantes detalles del gametocito masculino, tanto en *P. vivax* como en *P. falciparum*. Entre las cosas más importantes puestas de manifiesto está la existencia de cromosomas individualizados y bien definidos. Sin embargo, aunque los dibujos son sumamente claros, las fotomicrografías no permiten percibir todos los detalles y, en consecuencia, es difícil formarse una opinión definitiva al respecto, sin la oportunidad de examinar directamente las preparaciones.

Como se ve por lo expuesto, la citología de estos animales no ha sido trabajada aun sino en forma por demás incompleta y fragmentaria. Toda-

vía quedan problemas que ameritan ser tratados más a fondo, y cuya resolución dependerá seguramente del perfeccionamiento de los métodos de observación (empleo del microscopio de fase o del microscopio electrónico, si es que resulta conveniente) o bien del hallazgo de nuevos métodos de fijación, y sobre todo de coloración, más precisos y eficientes, aplicables a frotis húmedos.

CICLO VITAL.—En este campo es donde se han logrado mayores adelantos en los últimos tiempos, y los que seguramente tendrán mayor repercusión en diversos aspectos del conocimiento biológico de los plasmodios, y sus implicaciones clínicas, epidemiológicas, terapéuticas, etc.

Después de que Schaudinn (1903) explicó detalladamente, y aun ilustró con dibujos, la manera como los esporozoides penetraban a los eritrocitos y se convertían en trofozoides en su interior, esta explicación, que parecía lógica y ajustada a lo que de antemano podía preverse, fué casi unánimemente aceptada.

No faltaron sin embargo autores que, basándose en consideraciones indirectas, así como en el hecho de que no habían logrado repetir la observación aparentemente sencilla del protozoólogo alemán, pensaron que las cosas, tal como habían sido descritas por éste, no explicaban suficientemente muchos de los hechos observados.

Poco a poco, fué pues creciendo la opinión de que los esporozoides debían sufrir una evolución previa en el seno de los tejidos, después de ser inoculados por el mosquito. Se pensó también, y esto para explicar algunos fenómenos clínicos y terapéuticos, que cuando los plasmodios desaparecían de la sangre por algún tiempo, para volver a aparecer en ella durante una recaída, posiblemente se habían encontrado localizados en otras células que no fueran eritrocitos.

Según Huff (1947), el primero en haber visto formas exoeritrocíticas del género *Plasmodium* fué Anschütz (1909, 1910) trabajando posiblemente con *P. circumflexum*; y posteriormente Ben-Harel (1923) las encontró también, trabajando probablemente con *P. elongatum*, aunque en aquel tiempo no se interpretó adecuadamente la significación de esas observaciones.

Fueron Huff (1930), Raffaele (1934) y Huff y Bloom (1935), quienes consiguieron interpretar correctamente esas formas en el ciclo de *P. elongatum*; y el descubrimiento de abundantes formas exoeritrocíticas, fácilmente observadas en *P. gallinaceum*, hecho por James y Tate

(1937, 1938), quienes también introdujeron dicho término para designarlas, despertó gran interés y dejó establecido, sin lugar a dudas, la existencia de formas apigmentadas del género *Plasmodium*, que se desarrollaban y presentaban procesos esquizogónicos, en células distintas a los eritrocitos.

Quedaba aún por demostrar el comportamiento de los parásitos desde el momento de la inoculación de los esporozoides por el mosquito, hasta el momento de la aparición de trofozoides en los glóbulos rojos; es decir, la etapa que actualmente designamos como pre-eritrocítica. Trabajando con *P. gallinaceum*, y empleando una técnica especial y muy cuidadosa, Huff y Coulston (1944) fueron capaces de seguir, en el sitio de la inoculación, todos los cambios en el ciclo vital del plasmodio, antes de llegar a los eritrocitos. Posiblemente ya antes otros autores, especialmente Kikuth y Mudrow (1939) trabajando con *Plasmodium cathemerium*, y Reichenow y Mudrow (1943) empleando *P. proeox*, habían observado algunas de estas formas aunque sin lograr completar la serie.

Gracias a las investigaciones de Huff y Coulston (1944) acabadas de mencionar, se pudo demostrar, sin lugar a duda, con todos sus detalles, y a lo menos en una especie de plasmodio aviar (*Plasmodium gallinaceum*) la existencia de un ciclo preeritrocítico, sospechado tanto tiempo, pero que por dificultades técnicas no había podido comprobarse.

Por su parte, Dubin, Laird y Drinnon (1949) han logrado observar también la transformación de los esporozoides de *P. gallinaceum* en criptozooides, en cultivos de tejidos de pollos normales; cosa intentada anteriormente sin éxito por otros investigadores.

Posteriormente, Huff y sus colaboradores han logrado demostrar ciclos semejantes en otras especies de plasmodios de las aves, observando que todos siguen una marcha semejante en sus lineamientos generales, pero con interesantes variaciones de detalles en varios aspectos, como por ejemplo en la preferencia que demuestran los parásitos de distintas especies por diversos tipos de células del huésped.

Los resultados obtenidos en los plasmodios aviarios, y las múltiples pruebas indirectas de que algo semejante debía ocurrir en el hombre, hicieron que se multiplicaran las observaciones al respecto. Pero todavía a fines de 1947, hablando ante el II Congreso Mexicano de Medicina, Huff (1948) que tan familiarizado estaba con el problema, después de considerar los reportes de supuestos hallazgos presentados por otros autores, se mostraba escéptico de la validez de los mismos, aunque expre-

saba su íntima convicción, basada en evidencias indirectas, de que los diversos estadios exoeritrocíticos debían existir en el paludismo de los mamíferos, y que algún día serían encontrados.

A comienzos de 1948, Shortt y Garnham (1948, 1948a.) y Shortt, Garnham y Malamos (1948), reportaron el hallazgo de forma preeritrocíticas de *P. cynomolgi* en el hígado de *Macaca mulatta*. Posteriormente Shortt (1948) y Shortt, Garnham, Covell y Shute (1948) ofrecieron una descripción más amplia de dicho descubrimiento, y reportaron un hallazgo semejante en el caso de *P. vivax*. Poco después, Shortt y Garnham (1948b) describieron en detalle, y en forma comparativa, sus hallazgos en el mono (*P. cynomolgi*) y en el hombre (*P. vivax*).

Coulston (1949) repitió en los Estados Unidos los experimentos de Shortt y sus colaboradores, encontrando especímenes preeritrocíticos de *P. cynomolgi* no sólo en el hígado (tanto en las células hepáticas como en las de Kupffer) sino también en el bazo.

Al número de especies de plasmodios aviarios, en las que ya sabíamos existían formas preeritrocíticas, se han venido a agregar una especie parásita del mono, y otra del hombre, en la que se ha demostrado lo mismo. Sin embargo, en el caso de los plasmodios de los mamíferos la serie no es tan completa como en la investigada por Huff en *P. gallinaceum* y otros parásitos de las aves, pues en el caso de *P. cynomolgi* las observaciones comienzan a ser positivas hasta el 5º día, a partir del cual se prolongan hasta el establecimiento de la infección sanguínea, generalmente al 9º o 10º días; y en el caso de *P. vivax* sólo se conocen los estadios correspondientes al 6º y 7º días.

Resumiendo lo dicho en esta breve revista, puede verse que en los últimos lustros se han realizado trascendentales adquisiciones respecto a la parasitología del paludismo, pero que todavía nos quedan grandes problemas por resolver.

Así, en el caso de la taxonomía, será menester multiplicar la búsqueda de nuevas especies en los animales, y aún en el hombre mismo, antes de establecer, con material suficiente y sobre bases satisfactorias, la validez de las diversas especies y sus posibles relaciones recíprocas.

En lo que respecta a la citología, prácticamente todo lo que se refiere a un conocimiento fino de la misma, cuya necesidad es evidente, está aún por realizarse.

Y en el terreno del ciclo vital, que es en el que se han realizado mayores progresos, podemos ya derivar de lo que a la fecha sabemos, muchas

conclusiones importantes en sus relaciones con la clínica, la terapéutica y la epidemiología. Pero aun quedan muchas lagunas por llenar, entre las cuales están las referentes a completar detalladamente el ciclo preeritrocítico de *P. vivax*, y establecerlo en el caso de *P. malariae*, *P. falciparum* y *P. ovale*, en los que aún no ha sido demostrado.

REFERENCIAS

Anschutz, G. 1909 "Ueber den Entwicklungsgang des Haemoproteus oryzivora n. sp." Centr. Bakt. Parasitenk. 51:654-659.

——— 1910 "Ueber uebertragungsversuche von Haemoproteus oryzivora und Trypanosoma paddae, nebst Bemerkungen ueber den Entwicklungsgang des ersteren". Centr. Bakt. Parasitenk. 54:328-331.

Aragao, H. de B. 1934 "Evolução dos gametos de Plasmodium falciparum. Nota preliminar". Mem. Inst. Osw. Cruz 24:41-48.

Beltrán, E. 1944 "Paludismo humano y paludismo animal", Ciencia 4:203-208.

——— 1944 "Algunos problemas zoológicos de los parásitos del paludismo (Plasmodiidae)", Gac. Méd. de México, 74:61-74.

Ben-Harel, S. 1923 "Studies on bird malaria in relation to the mechanics of relapse", Am. J. Hyg. 3:652-685.

Boyd, M. F. 1935 "The comparative morphology of the sporozoites of the human species of Plasmodium Marchafava and Celli, 1865". J. Parasitol. 21:255-259.

Breindl, B. und O. Jirovec 1932 "Einige Bemerkungen für die Nuclearreaction bei Laverania malariae und Plasmodium praecox" Centr. f. Bakt. I Abt. Orig. 126:184-186.

Corradetti, A. 1938 "Osservazione sull ciclo schizogonico dei plasmodi nelle cellule dei tessuti e proposta di una nuova classificazione degli Haemosporidiidae", Riv. di Parasitol. 2:23-37.

Coulston, F. 1949 "Exoerythrocytic stages of Plasmodium cynomolgi in the Macaca mulatta", Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 70:360-364.

Chen, T. T. 1944 "The nuclei in avian malaria parasites I The structure of nuclei in Plasmodium elongatum, with some considerations in technique" Am. J. Hyg. 40:26-34.

Dubin, I. N., R. L. Laird and V. P. Drinnon 1949 "The development of sporozoites of P. gallinaceum into cryptozoites in tissue culture", J. Nat. Malaria Soc. 8:175-180.

- Grassi, B.** 1920 "Seconda relazione della lotta antimalarica a Fiumicino (Roma). Parte I" Suppl. Ann. d'Igiene, anno 30.
- Gross, H.** 1918 "L'unité des protozoaires du paludisme", Bull. Soc. Path. Exot. 11:624-641.
- Huff, C. G.** 1930 "Plasmodium elongatum n. sp., an avian malaria organism with an elongate gametocyte", Am. J. Hyg. 11:385-391.
- 1938 "Studies on the evolution of some disease producing organisms" Quart. Rev. Biol. 13:196-206.
- 1942 "Schizogony and gametocyte development in *Leucocytozoon simondi*, and comparison with *Plasmodium* and *Haemoproteus*". J. Inf. Disea. 71:18-32.
- 1945 "A consideration of the problem of evolution of malaria parasites", Rev. Inst. Salub. y Enf. Trops. 6:253-258.
- 1947 "Life cycle of malaria parasites", Ann. Rev. Microbiol. 1:43-60.
- 1948 "Exoerythrocytic stages of malaria parasites". Mem. II Cong. Mex. Medicina, 6-11.
- 1949 "Sobre la historia natural de los parásitos del paludismo". Rev. Soc. Mex. Hist. Nat. 10: (en prensa).
- and **W. Bloom** 1935 "A malaria parasite infecting all blood and blood forming cells of birds". J. Inf. Disea. 57:315-349.
- and **F. Coulston** 1944 "The development of *Plasmodium gallinaceum* from sporozoite to erythrocytic trofozoite", J. Inf. Disea. 75:231-249.
- Ioff, L.** 1940 "Zur Morphologie der Parasiten der Malaria tropica (*Plasmodium immaeulatum* Grassi u. Feletti, 1890)" Centr. f. Bakteriol. 116:225-241.
- James, S. P.** and **Tate** 1937 "New knowledge of the life cycle of malaria parasites", Nature (London) 139:545.
- ——— 1938 "Exo-erythrocytic schizogony in *Plasmodium gallinaceum* Brumpt", Parasitology 30: 128-139.
- Jirovec, O.** und **W. Cerny** 1932 "Ergebnisse der Nuclealreaktion bei Vogel-malaria" Centr. f. Bakt. 1 Abt. Orig. 126:181-194.
- Kikuth, W.** und **L. Mudrow** 1938 "Die endothelialen Stadien der Malaria-parasiten in Experiment und Theorie", Centr. f. Bakt. 1 Ab. Orig. 142:113-132.
- ——— 1939 Centr. f. Bakt. 145-81-88. (non vidi).
- Laveran, A.** 1880 "Note sur un nouveau parasite trouvé dans le sang de malades atteints de fièvre palustre" Bull. Acad. de med. Paris, 9:1235, 1268, 1346.

Mayne, B. 1920 "One or several species of malaria parasites? A review of recent work bearing on this question" *Publ. Health Rep.* 35:2846-2858.

Mac Dougal, M. S. 1947 "Cytological studies of *Plasmodium*: the male gametocyte". *J. Nat. Malaria Soc.* 6:91-98.

Missiroli, A. e A. Mosna. 1934 "La reazione nucleare nei vari stadi di sviluppo dei parassiti malarici", *Riv. di Malariol.* 13:553.

Pawan, J. L. 1931 "Feulgen nuclear reaction and the malarial nucleus" *Ann. Trop. Med. & Parasitol.* 25:185-186.

Peñáz, D. E. Pérez y A. Barrera 1948 "Estudios sobre hematozoarios. I *Plasmodium mexicanum* Thomson y Huff, 1944 en sus huéspedes naturales". *Ann. Esc. Nac. Cien. Biol.* 5:197-215.

Porter, E. J. and C. G. Huff 1940 "Review of the literature on exoerythrocytic schizogony in certain malaria parasites, and its relation to the schizogonic cycle in *Plasmodium elongatum*", *Am. J. Trop. Med.* 20:869-888.

Raffaële, G. 1934 "Sul comportamento degli sporozoiti nell sangue dell'ospite", *Riv. di Malariol.* 13:395-403.

——— 1936 "Presumibili forme iniziali di evoluzione di *Plasmodium relietum*", *Riv. di Malariol.* 15:318-324.

Reichenow, E. und L. Mndrow 1943 "Der Entwicklungsgang von *Plasmodium praecox* in Vogel koerper", *Deutsch. Tropenmed. Zeit.* 47: 289-299.

Schandim, F. 1903 "Studien über krankheiserregende Protozoan II. *Plasmodium vivax* (Grassi und Feletti) del Enreger des Tertiansfiebers beim Menschen" *Arb. Gesundh. Amt. Berl.* 19:169-250.

Shortt, H. E. 1948 "The pre-erythrocytic cycle of *Plasmodium cynomolgi*". *Proc. IV Intern. Cong. Trop. Med. & Malaria*, 1:607-617.

——— and **P. C. C. Garnham** 1948 "Pre-erythrocytic stage in mammalian malaria parasites" *Nature (London)* 161:126.

——— ——— 1948a "Demonstration of a persisting exoerythrocytic cycle in *Plasmodium cynomolgi* and its bearing on the production of relapses". *Brit. Med. Jour.* 4564:1225-1228.

——— ——— 1948b "The preerythrocytic development of *Plasmodium cynomolgi* and *Plasmodium vivax*", *Trans. Roy Soc. Trop. Med. & Hyg.* 41:785-795.

——— ——— **C. Covell and P. G. Shute** 1948 "The preerythrocytic stage of human malaria *Plasmodium vivax*". *Brit. Med. Jour.* 4550:547.

——— ——— and **B. Malamos** 1948 "The pre-erythrocytic stage of mammalian malaria". *Brit. Med. Jour.* 4543:192-194.

Stephens, J. W. W 1922 "A new malarial parasite of man", Ann. Trop. Med. 16:383-388.

Ungo-Mugdan, A. 1938 "La reazione nucleare di Feulgen negli stadi exo-eritrocitici del *P. gallinaceum* Brump (1935)" Riv. di Parasitol. 2:323-320.

Wagner-Jauregui J. 1918/19 "Ueber die Einfflrkung der Malaria auf die Progressive Paralysis", Psychiat. Neurol. Wochenschr. 20:132-139.

Young, M. D. and D. E. Eyles 1949 "Parasites resembling *Plasmodium ovale* in strains of *Plasmodium vivax*", J. Nat. Malaria Soc. 8:219-223.