

## TRIPANOSOMA DO "COMPLEXO CRUZI" EM RESERVATÓRIO SILVESTRE NO ESTADO DA GUANABARA. ESTUDO DE SUA PATOGENICIDADE

J. Rodrigues COURA (1), Luiz Fernando FERREIRA (1), Julio RUBENS (1),  
Nelson Coelho PEREIRA (2) e J. Rodrigues da SILVA (3)

### RESUMO

Os Autores estudaram do ponto de vista patogênico um tripanosoma morfológicamente semelhante ao *T. cruzi*, encontrado em reservatório silvestre no Estado da Guanabara. Analisando detidamente os aspectos morfológicos e evolutivos desse tripanosoma, encontraram identidade entre as cepas isoladas e as formas largas do *Trypanosoma cruzi*. Entretanto, o estudo anátomo-patológico dos animais silvestres naturalmente infetados não revelou a presença de leishmânia no miocárdio de nenhum deles, apesar de terem estudado minuciosamente 90 cortes deste órgão em cada um desses animais. As lesões encontradas foram apenas de natureza inflamatória — infiltrados do tipo linfoplasmocitário intersticial.

Inoculando cepas do tripanosoma isolado dos animais silvestres (gambás) em animais de laboratório (camundongos jovens, cobaios e cães) só observaram tripanosoma no sangue periférico e leishmânia no miocárdio em 2 dos animais inoculados, nos quais a resistência foi baixada por altas doses de corticosteróides; no entanto, o xenodiagnóstico foi positivo praticamente em todos os animais inoculados, revelando-se o exame de maior sensibilidade nos casos de infecção por cepas de patogenicidade atenuada.

Concluem os Autores tratar-se de um tripanosoma de baixa virulência e patogenicidade, porém certamente pertencente ao "complexo *cruzi*".

### INTRODUÇÃO

O problema dos reservatórios silvestres de tripanosomas morfológicamente semelhante ao *T. cruzi* vem ultimamente despertando grande interesse entre os epidemiologistas e pesquisadores, de um lado pela importância epidemiológica destes reservatórios já assinalada desde os trabalhos pioneiros de CHAGAS<sup>7, 8</sup> e, de outro, pela diversidade de aspectos morfológicos, imunológicos e patogênicos com que os tripanosomas se apresentam, segundo o hospedeiro que o alber-

ga e outros fatores ainda não bem determinados. De fato, desde os trabalhos iniciais de CHAGAS<sup>5, 6</sup>, CHAGAS & VILLELA<sup>9</sup>, VILLELA<sup>25</sup>, DIAS<sup>16</sup> e EVANDRO CHAGAS<sup>10</sup> são conhecidas algumas diferenças morfológicas e patogênicas do *Trypanosoma cruzi*, assim como variações da evolução clínica da doença no homem. Mais recentemente, estudos de NUSSENZWEIG & col.<sup>23</sup> vieram demonstrar a existência de pelo menos dois tipos imunológicos do flagelado. BRENER &

Trabalho da Cadeira de Clínica de Doenças Tropicais e Infecciosas da Faculdade Nacional de Medicina (Universidade do Brasil), Rio de Janeiro, Brasil

(1) Assistentes

(2) Acadêmico de medicina

(3) Professor catedrático

CHIARI<sup>3</sup>, analisando sete amostras de *T. cruzi* de diversas procedências, puderam agrupá-las em três padrões morfológicos de acordo com a largura das formas predominantes. Por outro lado, DEANE & col.<sup>15</sup>, estudando a patogenicidade de cepas de tripanosoma morfológicamente semelhante a *T. cruzi*, isoladas de quatro espécies de animais silvestres, verificaram nítidas diferenças patogênicas entre elas.

Diversos pesquisadores nacionais têm-se dedicado ao estudo dos reservatórios silvestres de tripanosomas morfológicamente semelhantes ao *T. cruzi*, dentre os quais destacamos os trabalhos de MAURO PEREIRA BARRETTO e LEÔNIDAS DE MELLO DEANE que, em revisão recente (BARRETTO<sup>1</sup> e DEANE<sup>12</sup>), sintetizam os dados da literatura nacional. Segundo este último Autor, trinta e quatro espécies ou subespécies de mamíferos silvestres dentre os primatas, desdentados, marsupiais, carnívoros, roedores e quirópteros já foram assinaladas como reservatórios silvestres de *T. cruzi* no Brasil.

No Estado da Guanabara nenhum outro trabalho, além das observações iniciais de GUIMARÃES & JANSEN<sup>19</sup>, foi realizado até então neste campo.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Instalamos no bairro de Santa Teresa, em pleno centro da cidade do Rio de Janeiro, duas estações de captura de animais, a primeira em uma área livre localizada nos fundos da casa n.º 28 da Estrada D. Joaquim Mamede — Lagoinha e a segunda em uma área florestal do Silvestre. Cada estação de captura era composta apenas de uma armadilha rústica, com 100 cm × 50 cm × 50 cm, construída com madeira e tela de arame com malha de 2 cm, permitindo, portanto, a captura de animais de pequeno e médio porte, usando-se como "isca" carne ou uma mistura de carne e frutas. As armadilhas eram examinadas diariamente e ficaram em funcionamento de setembro de 1964 a março de 1965.

Os animais capturados eram submetidos aos seguintes exames: exame de sangue entre lâmina e lamínula, xenodiagnóstico e exame histopatológico do coração e fígado

em todos e de outros órgãos ocasionalmente. De todos os animais foi também retirado sangue por punção cardíaca para hemocultura nos meios de N. N. N. e de BONACCI. A hemoscopia entre lâmina e lamínula foi realizada de acordo com a técnica preconizada por BRENER<sup>2</sup>, isto é, análise inicial de 100 campos microscópicos (aumento de 10 × 45), sendo 20 campos em cada ângulo da lamínula e 20 no centro; caso estes campos fôssem negativos, toda a preparação era examinada. Se algum tripanosoma era visto no exame direto a fresco, 10 esfregaços de sangue do animal eram feitos em lâmina e corados pelo May-Grünwald-Giemsa, para posterior análise morfológica do tripanosoma. Os xenodiagnósticos foram realizados com cinco ninfas de *Rhodnius prolixus* e o exame microscópico das fezes do inseto era feito de 30 a 45 dias após o repasto.

Os órgãos retirados durante a necrópsia eram fixados no formol a 10% durante pelo menos uma semana antes da inclusão e corte; os cortes foram feitos com um micrótomo regulado para 5  $\mu$  de espessura. De cada coração foram retirados 90 cortes transversais, sendo 30 respectivamente de ponta, do meio e da base. De cada um dos outros órgãos foram retirados 12 cortes. As lâminas foram coradas pela hematoxilina-cosina.

O sangue colhido por punção asséptica do coração de cada animal foi plantado ao mesmo tempo nos meios de N. N. N. e de BONACCI, na base de 1 ml de sangue para cada tubo contendo 10 ml do meio. As culturas foram mantidas em temperatura ambiente (25°C a 30°C) e observadas regularmente cada cinco dias a partir do 5.º dia até o 20.º dia, quando o material positivo era repicado para novo meio.

O tripanosoma de "gambá" isolado por cultura e xenodiagnóstico (Quadro I) foi inoculado por via peritoneal em camundongos jovens, cobaios e cãesinhos com quinze dias (Quadro II). Uma suspensão espessa da cultura do tripanosoma foi inoculada duas semanas após o plantio, na base de 0,2 ml para cada camundongo de cerca de 16 g e de 0,5 ml para cada cobaio e cãozinho. O conteúdo intestinal de um "barbeiro" positivo (xeno de "gambá") era reti-

rado por dissecação, diluído em 0,2 a 0,3 ml de sêro fisiológico e inoculado por via peritoneal nos animais assinalados no Quadro II.

Os animais inoculados foram examinados com as mesmas técnicas empregadas para os animais silvestres. A hemoscopia entre lâmina e lamínula foi realizada regularmente cada cinco dias a partir do 5.º dia até a data da morte do animal. O xenodiagnóstico foi realizado cada quinze dias. Estes animais foram sacrificados em períodos variáveis, como podemos verificar no Quadro II, exceto os dois cãezinhos, que morreram da infecção experimental 35 e 40 dias após a inoculação. O exame histopatológico do coração, fígado, baço e oca-

sionalmente de outros órgãos foi realizado com as mesmas técnicas já assinaladas.

#### RESULTADOS

Como podemos observar no Quadro I, dos quinze animais silvestres capturados, quatro apresentaram tripanosoma morfológicamente semelhante ao *T. cruzi* pelo xenodiagnóstico e hemocultura e em apenas três foi encontrado tripanosoma pelo exame direto do sangue entre lâmina e lamínula. Os tripanosomas de "gambá" encontrados no exame de sangue a fresco entre lâmina e lamínula apresentavam grande mobilidade, conservando-a durante mais de uma hora; os esfregaços, corados pelo May-Grünwald-

QUADRO I

Animais silvestres capturados

N.º de ordem	Espécies	Hemoscopia	Xenodiagnóstico	Hemocultura	Histopatologia			
					Coração		Fígado	
					Parasitas	Lesões	Parasitas	Lesões
1	<i>Didelphis marsupialis aurita</i> (gambá)	—	—	—	—	+	—	+
2	<i>Didelphis marsupialis aurita</i> (gambá)	—	—	—	—	+	—	—
3	<i>Metachirus nudicaudata</i> (cuíca) . . . . .	—	—	—	—	—	—	—
4	<i>Didelphis marsupialis aurita</i> (gambá)	—	—	—	—	—	—	+
5	<i>Didelphis marsupialis aurita</i> (gambá)	—	—	—	—	+	—	+
6	<i>Didelphis marsupialis aurita</i> (gambá)	+	+	+	—	+++	—	+++
7	<i>Didelphis marsupialis aurita</i> (gambá)	—	+	+	—	++	—	++
8	<i>Didelphis marsupialis aurita</i> (gambá)	+	+	+	—	++	—	++
9	<i>Sciurus ingrami</i> (cachinguelê) . . . . .	—	—	—	—	—	—	—
10	<i>Didelphis marsupialis aurita</i> (gambá)	—	—	—	—	+	—	—
11	<i>Didelphis marsupialis aurita</i> (gambá)	+	+	+	—	++	—	++
12	<i>Didelphis marsupialis aurita</i> (gambá)	—	—	—	—	+	—	+
13	<i>Didelphis marsupialis aurita</i> (gambá)	—	—	—	—	—	—	—
14	<i>Didelphis marsupialis aurita</i> (gambá)	—	—	—	—	+	—	+
15	<i>Didelphis marsupialis aurita</i> (gambá)	—	—	—	—	+	—	+

QUADRO II  
Animais inoculados

N.º de ordem	Espécie	Material	Via	Hemoscopia	Xenodiagnóstico	Dias de Infecção	Histopatologia								
							Coração		Fígado		Baço				
							Parasitas	Lesões	Parasitas	Lesões	Parasitas	Lesões			
1	Camundongo	Cultura	Peritônio	-	+	30	-	+	-	+	+	-	-	+	+
2	Camundongo	Fezes "barbeiro"	Peritônio	-	+	25	-	+	-	+	+	-	-	+	+
3	Camundongo	Fezes "barbeiro"	Peritônio	-	+	25	+	+	-	+	+	-	-	+	+
4	Cobaio	Cultura	Peritônio	-	+	60	-	+	-	+	+	-	-	+	+
5	Cobaio	Cultura	Peritônio	-	+	60	-	+	-	+	+	-	-	+	+
6	Cobaio	Cultura	Peritônio	-	-	60	-	+	-	+	+	-	-	+	+
7	Cão	Fezes "barbeiro"	Peritônio	+	+	35	+	+	-	+	+	+	+	+	+
8	Cão	Fezes "barbeiro"	Peritônio	+	+	40	+	+	-	+	+	+	+	+	+

Giemsa, apresentavam tripanosomas de formas largas, com as seguintes características morfológicas médias:

Comprimento total .....	25,3 $\mu$
Comprimento do corpo .....	16,8 $\mu$
Largura do corpo .....	2,3 $\mu$
Comprimento do flagelo .....	8,4 $\mu$
Comprimento do núcleo .....	2,3 $\mu$
Largura do núcleo .....	2,1 $\mu$
Diâmetro do cinetoplasto ....	1,2 $\mu$
Distância do cinetoplasto à extremidade posterior .....	1,8 $\mu$

As hemoculturas foram positivas entre o 5.<sup>o</sup> e o 10.<sup>o</sup> dia e apresentaram formas evolutivas em leishmânia, critídia e tripanosoma. O exame histopatológico do coração e fígado dos animais silvestres positivos (com tripanosomas no sangue periférico) mostrou extensas lesões degenerativas e inflamató-

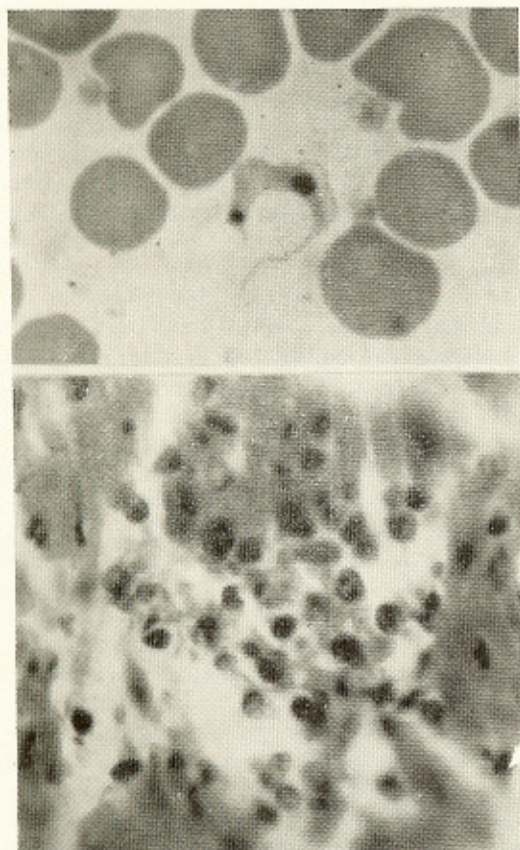


Fig. 1 — Tripanosoma do "complexo cruzi" isolado de gambá (Giemsa, 1.000  $\times$ ) e infiltrado inflamatório miocárdico do mesmo animal (H.E., 400  $\times$ ).

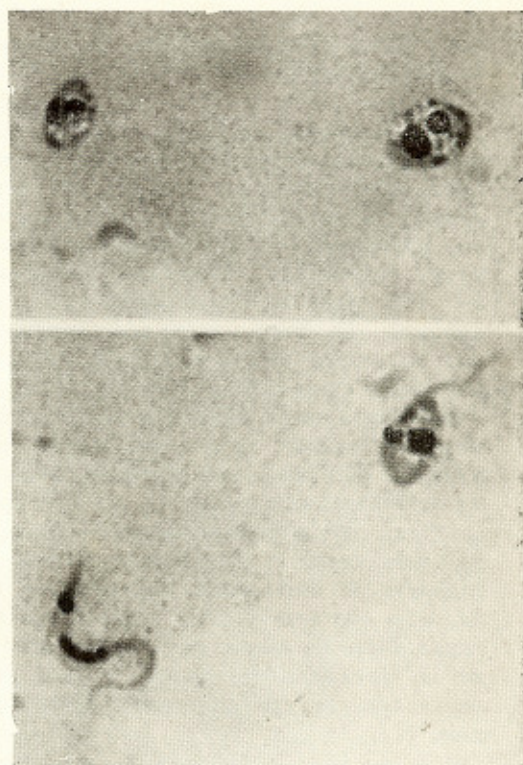


Fig. 2 — Formas evolutivas em cultura, do tripanosoma isolado de gambá (Giemsa, 1.000  $\times$ ).

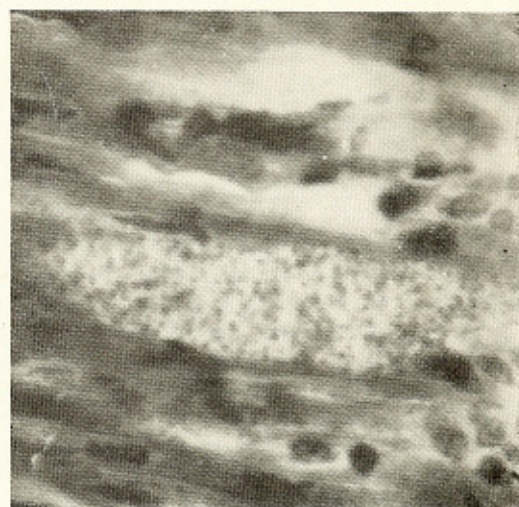


Fig. 3 — Ninhos de leishmânias no miocárdio de cão inoculado com o tripanosoma isolado de gambá e tratado com altas doses de corticosteroide (H.E., 1.000  $\times$ ).

rias, como se pode verificar no Quadro III; em nenhum dêles, no entanto, encontramos leishmânias em nenhum órgão.

Em sete animais ("gambás") negativos para tripanosomas no sangue, o exame histopatológico revelou discretos infiltrados mononucleares intersticiais no coração e periportal; em um dos animais havia pneumonia intersticial com predominância linfocitária. Na "cuíca" (*Metachirus nudicaudata*), bem como no "cachinguelê" (*Sciurus ingrami*) não foram encontrados tripanosomas no sangue nem lesões histopatológicas nos órgãos examinados.

Dos oito animais inoculados com tripanosoma de "gambá" (três camundongos, três cobaias e dois cães), sete vieram a apresentar xenodiagnóstico positivo e em dois apenas foram encontrados tripanosomas no sangue pelo exame a fresco entre lâmina e lamínula. É interessante assinalar que os dois cães que apresentaram tripanosomas ao exame direto do sangue só o fizeram após o uso de corticosteróides durante 5 dias, com exacerbação da infecção e morte destes animais.

O exame histopatológico do coração, fígado e baço dos animais inoculados revelou, além da presença de ninhos de leishmânia no miocárdio de três dêles, extensas lesões inflamatórias, como podemos verificar no Quadro IV.

#### DISCUSSÃO

Pela análise dos resultados, podemos verificar elevada incidência de animais silvestres (*Didelphis marsupialis*) com infecção ativa pelo *Trypanosoma cruzi*, comprovada pela presença do próprio parasita na corrente sanguínea e indiretamente por lesões inflamatórias e degenerativas miocárdicas e hepáticas. O encontro de tripanosoma no sangue justamente daqueles animais que apresentaram lesões histopatológicas mais intensas leva-nos a acreditar na relação de causa e efeito entre a presença de tripanosoma e as lesões encontradas nestes animais, embora não tenhamos encontrado "ninhos" de leishmânia em nenhum dêles; por outro lado, a ausência de tripanosomas no sangue periférico dos outros "gambás" não exclui a possibilidade de uma infecção crônica, mesmo porque muitos dêles apresentaram lesões

inflamatórias miocárdicas e hepáticas compatíveis com o estado de portador de infecção crônica de evolução benigna. As características morfológicas dos tripanosomas encontrados nos gambás pelo exame direto do sangue entre lâmina e lamínula e em esfregaço corado pelo Giemsa são semelhantes àquelas das formas largas de *Trypanosoma cruzi* encontradas em casos de infecção humana e coincidem com a morfologia dos tripanosomas isolados diversas vezes por DEANE<sup>11, 13</sup> de animais da mesma espécie.

O verdadeiro significado das variações morfológicas do *Trypanosoma cruzi* ainda não está definitivamente explicado, apesar da existência de alguns trabalhos como os de BRUMPT<sup>4</sup>, DIAS & FREITAS Filho<sup>17</sup>, ELKELES<sup>18</sup>, MEYER & OLIVEIRA<sup>22</sup>, SILVA<sup>24</sup> e recentemente BRENER & CHIARI<sup>3</sup>; não se sabe ao certo se o polimorfismo do "complexo *cruzi*" representaria uma característica de cepas diferentes ou variantes biológicas de uma mesma cepa.

A virulência e patogenicidade dos tripanosomas morfológicamente semelhantes ao *T. cruzi*, isolados dos hospedeiros silvestres, mostram-se geralmente atenuadas. Uma grande variedade de comportamento tem, entretanto, sido observada com cepas de origens diversas; assim, VILLELA<sup>25</sup> isolou do tatu uma cepa neurotrópica altamente virulenta para o cobaio; DEANE & DEANE<sup>14</sup> isolaram de um marsupial, no Ceará, um tripanosoma que, inoculado em cão, produziu uma infecção severa, levando o animal à morte com paralisia das patas posteriores. Recentemente, DEANE & col.<sup>15</sup>, comparando a patogenicidade de tripanosomas isolados de quatro espécies de animais silvestres, verificaram nítida diferença de virulência entre êles, encontrando um tripanosoma do rato silvestre (*Nectomys squamipes*) altamente virulento para o camundongo.

A diversidade de aspectos morfológicos, imunológicos e patogênicos com que o *Trypanosoma cruzi* se apresenta, segundo o hospedeiro que o albergue e outros fatores ainda não bem determinados, bem como as variações regionais e individuais da doença de Chagas justificariam a designação de "complexo *cruzi*" para êsse conjunto etio-patogênico, em analogia à designação dada por HOARE<sup>20</sup> à *Entamoeba histolytica*, protozoário que também apresenta variações

COURA, J. R.; FERREIRA, L. F.; RUBENS, J.; PEREIRA, N. C. & SILVA, J. R. da — Tripanosoma do "complexo cruzi" em reservatório silvestre no Estado da Guanabara. Estudo de sua patogenicidade. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 8:125-133, 1966.

QUADRO III

Animais silvestres naturalmente infetados com *T. cruzi* — Histopatologia

Animal	Coração	Fígado e baço
Gambá (6)	Infiltrado inflamatório agudo em regiões da base. Áreas de miocitólise. Zonas de infiltrado linfoplasmocitário e eosinofílico. Edema intersticial.	Áreas de esteatose hepática. Infiltrado portal eosinofílico e linfocitário. Hiperplasia das células de Kupffer
Gambá (7)	Infiltrado mononuclear intersticial. Degeneração acidófila.	Infiltrado linfoplasmocitário portal
Gambá (8)	Infiltrado mononuclear intersticial	Infiltrado linfocitário portal
Gambá (11)	Infiltrado mononuclear intersticial. Focos de miocitólise.	Infiltrado linfoplasmocitário portal. Baço: intensa hiperplasia linfoplasmocitária

QUADRO IV

Animais inoculados com tripanosomas de gambá — Histopatologia

Animal	Coração	Fígado e baço
Camundongo (1)	Discreto infiltrado mononuclear intersticial	Discreto infiltrado linfocitário portal; anisocitose dos hepatócitos. Baço: intensa hiperplasia dos folículos linfóides
Camundongo (2)	Discreto infiltrado mononuclear intersticial	Acúmulo linfocitário portal. Baço: congestão e hiperplasia linforeticular
Camundongo (3)	Ninhos de leishmânias. Denso infiltrado linfocitário na musculatura auricular e nódulo sinoauricular	Discreto infiltrado linfocitário portal. Baço: congestão e hiperplasia linforeticular
Cobaio (4)	Infiltrado mononuclear intersticial. Fragmentação de fibras	Hiperplasia das células de Kupffer. Baço: hiperplasia linforeticular
Cobaio (5)	Infiltrado intersticial mononuclear. Áreas de hemorragia	Fígado sem alterações. Baço: hiperplasia dos folículos linfáticos
Cobaio (6)	Infiltrado intersticial mononuclear. Áreas de hemorragia	Fígado sem alterações. Baço: hiperplasia dos folículos linfáticos.
Cão (7)	Numerosos ninhos de leishmânias. Denso infiltrado linfocitário	Denso infiltrado portal linfocitário; focos de necrose e micro-abscessos. Baço: hiperplasia linforeticular
Cão (8)	Idem (7)	Idem (7)

quanto à sua morfologia e patogenicidade. Aliás, êste Autor propôs recentemente uma nova classificação para os tripanosomas de mamíferos<sup>21</sup>, na qual enquadra o *Trypanosoma cruzi* como espécie-tipo do subgênero *Schizotrypanum* (Seção STERCORARIA), incluindo o *T. versperilionis* e outras formas similares.

Com referência aos tripanosomas isolados dos animais silvestres ("gambás") de Santa Teresa, parecem-nos de virulência bastante atenuada e patogenicidade discreta, uma vez que só conseguimos infecções mais graves pela baixa de resistência dos animais (cães) com o uso de corticosteróides em grandes doses. Por outro lado, o encontro de leishmânias nos tecidos só foi verificado em três dos oito animais inoculados, dois dos quais haviam feito uso de corticosteróides, e em nenhum dos animais naturalmente infetados encontramos parasitas tissulares.

A facilidade de cultivo em meios de ágar-sangue (N.N.N. e Bonacci) e o desenvolvimento normal dos tripanosomas isolados de marsupiais em "ninfas" de triatomídeos — no caso *Rhodnius prolixus* — confirmam as características evolutivas destes tripanosomas como pertencente ao "complexo cruzi". Por outro lado, a infecção experimental de animais de laboratório, com produção de miocardite em todos e formação de "ninhas" de leishmânias em alguns, identifica êstes flagelados com o *Trypanosoma cruzi*.

#### SUMMARY

*Trypanosome of cruzi-like complex in sylvan reservoir in the Guanabara State. Study of its pathogenicity*

The Authors studied the pathogenicity of a cruzi-like trypanosome found in sylvan reservoir in the Guanabara State (Brasil). This trypanosome was morphologically similar to *Trypanosoma cruzi* but no parasite was found in the hosts tissues and it was very difficult to find it in the experimentally inoculated animals (mice, guinea-pigs and pupies). However, when the animal resistance was "blockaded" by cortisone a very severe trypanosome infection was responsible for the animals death.

Xenodiagnosis was shown to be the best method to show parasites in experimental infection by low pathogenicity strains of cruzi-like trypanosome.

The Authors believe that the strains found in this sylvan animals (opossum) was from a low pathogenicity trypanosome but certainly enclosed in the "cruzi-complex".

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. BARRETTO, M. P. — Reservatórios e vetores do *Trypanosoma cruzi* no Brasil. *Arq. Hig. (São Paulo)* 28:43-66, 1963.
2. BRENER, Z. — *Contribuição ao estudo da terapêutica experimental da doença de Chagas*. Tese. Faculdade de Odontologia e Farmácia, Univ. Minas Gerais, 1961.
3. BRENER, Z. & CHIARI, E. — Variações morfológicas observadas em diferentes amostras de *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 5:220-224, 1963.
4. BRUMPT, E. — Le *Trypanosoma cruzi* évolué chez *Conorhinus megistus*, *Cimex lectularius*, *Cimex boueti* e *Ornithodoros moubata*. Cycle évolutif de ce parasite. *Bull. Soc. Path. Exot.* 5:360-364, 1912.
5. CHAGAS, C. — Nova tripanosomíase humana. Estudos sôbre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 1:159-218, 1909 b.
6. CHAGAS, C. — Nova entidade mórbida do homem. Resumo geral de estudos etiológicos e clínicos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 3:219-275, 1911.
7. CHAGAS, C. — Sôbre um tripanosoma do tatu, *Tatusia novemcinctus*, transmitido pelo *Triatoma geniculata* Latr. (1911). Possibilidade de ser o tatu um depositário do *Trypanosoma cruzi* no mundo exterior. Nota prévia. *Brasil Méd.* 26:305-306, 1912.
8. CHAGAS, C. — Papel do tatu (*Tatusia novemcinctus*) na transmissão do *Trypanosoma cruzi*. *Gaz. Med. Bahia* 49:336-542, 1918.
9. CHAGAS, C. & VILLELA, E. — Forma cardíaca da tripanosomíase americana. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 14:5-61, 1922.
10. CHAGAS, E. — Attenuation de la virulence du *Trypanosoma cruzi* par son passage dans l'organisme humain. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* 116:1153, 1934.



11. DEANE, L. M. — Tripanosomídeos de mamíferos da região amazônica. I — Alguns flagelados encontrados no sangue de mamíferos silvestres do Estado do Pará. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 3:15-28, 1961.
12. DEANE, L. M. — Animal reservoirs of *Trypanosoma cruzi* in Brazil. *Rev. Brasil. Malar.* 11:27-48, 1964 a.
13. DEANE, L. M. — Tripanosomídeos de mamíferos da região amazônica. III — Hemoscopia e xenodiagnóstico de animais silvestres dos arredores de Belém, Pará. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 6:225-232, 1964 b.
14. DEANE, L. M. & DEANE, M. P. — Notas sobre transmissores e reservatórios de *Trypanosoma cruzi* no noroeste do Estado do Ceará. *Rev. Brasil. Malar.* 9:577-595, 1957.
15. DEANE, M. P.; BRITO, T. de & DEANE, L. M. — Pathogenicity to mice of some strains of *Trypanosoma cruzi*, isolated from wild animals of Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 5:225-235, 1963.
16. DIAS, E. — *Estudos sobre o Schizotrypanum cruzi*. Tese. Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, 1933.
17. DIAS, E. & FREITAS Filho, L. — Introdução ao estudo biométrico dos hemoflagelados do gênero *Schizotrypanum*. I — Introdução, material e técnica, problemas e métodos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 38:425-436, 1943.
18. ELKELES, G. — Experimental studies and critical considerations regarding the life cycle of *Trypanosoma cruzi*. *Amer. J. Trop. Med.* 25:141-143, 1945.
19. GUIMARAES, F. N. & JANSEN, G. — Um foco potencial de tripanosomíase americana na cidade do Rio de Janeiro (Distrito Federal). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 39:405-417, 1943.
20. HOARE, C. A. — Considerations sur l'étiologie de l'amebíase d'après de rapport hôte-parasite. *Bull. Soc. Path. Exot.* 54:429-441, 1961.
21. HOARE, C. A. — Morphological and taxonomic studies on mammalian trypanosomes. X — Revision of the systematics. *J. Protozool.* 11:200-207, 1964.
22. MEYER, H. & OLIVEIRA, M. X. — Cultivation of *Trypanosoma cruzi* in tissue culture, a four year study. *Parasitology* 39:91-94, 1948.
23. NUSSENZWEIG, V.; DEANE, L. M. & KLOETZEL, J. — Diversidade da constituição antigênica de amostras de *Trypanosoma cruzi* isolados do homem e de gambás. Nota preliminar. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 4:409-410, 1962.
24. SILVA, L. H. P. — Observações sobre o ciclo evolutivo do *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 1:99-118, 1959.
25. VILLELA, E. — Variação do poder patogênico do *T. cruzi* (raça neurotrópica). *Sciencia med.* 3:147-149, 1925.

Recebido para publicação em 10/1/1966.