

ESTUDOS SOBRE RESERVATÓRIOS E VECTORES SILVESTRES DO *TRYPANOSOMA CRUZI*

VI. Infecção natural do roedor *Akodon arviculoides cursor* (Winge, 1885) por tripanossomo semelhante ao *Trypanosoma cruzi*

Francisco FERRIOLLI FILHO (1) e Mauro Pereira BARRETTO (2)

RESUMO

Tripanossomo semelhante ao *T. cruzi* foi isolado, por xenodiagnóstico, de um roedor — *Akodon arviculoides cursor* (WINGE, 1885) — procedente do Município de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo. Seu sangue foi negativo ao exame direto, porém, no conteúdo intestinal de ninfas de *Triatoma infestans* nele alimentadas, foram encontradas crífidias e tripanossomos metacíclicos. Este material foi inoculado em camundongos, que posteriormente apresentaram tripanossomos no sangue e leishmânias nas vísceras; a partir delas a infecção foi mantida por reinoculações de sangue. Todos os camundongos, após períodos prepatentes que variaram de 4 a 9 dias (média 6,76), apresentaram infecção, com parasitemias leves ou moderadas, registrando-se mortalidade de 10% entre os observados. O exame de órgãos de alguns camundongos sacrificados revelou ninhos de leishmânias no baço e no coração. Provas de imunidade cruzada em camundongos, feitas com a presente amostra, revelaram que ela confere grande resistência a posterior infecção com amostra humana (amostra Y) do *T. cruzi*. Culturas em meio de MacNeal-Novy, a partir de sangue de camundongos infetados, deram resultados positivos. A diferença de suscetibilidade de várias espécies de triatomíneos face a esta amostra de tripanossomo foi estudada, tendo sido verificados os seguintes índices de infecção: *Triatoma infestans*, 56,6%, *Triatoma sordida*, 80,0%, *Rhodnius prolixus*, 86,6% e *Rhodnius neglectus*, 66,6%.

INTRODUÇÃO

Tripanossomos morfológicamente indistinguíveis do *T. cruzi* foram já assinalados em numerosos roedores, em vários países do continente americano. Admite-se mesmo que esse protozoário ocorre, nos Estados Unidos da América do Norte, como enzootia de roedores, particularmente múridas dos gêneros *Neotoma* e *Peromyscus*. No Peru e na Bo-

livia atribui-se também a um roedor, a co-baia, importante papel como reservatório do parasita.

No Brasil o número de espécies de roedores encontradas em a natureza infetadas com tripanossomos semelhantes ao *T. cruzi* atinge a onze: *Dasyprocta aguti* (cutia) atribuída a VILLELA por CHAGAS⁷; *Nectomys*

Departamento de Parasitologia (Diretor: Prof. M. P. Barretto), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. Trabalho realizado, em parte, com auxílio financeiro do "National Institute of Allergy and Infectious Diseases, U.S. Public Health Service"

(1) Professor-assistente

(2) Professor-catedrático

squamipes amazonicus (rato d'água) encontrado no Pará por DEANE¹²; *Rattus rattus norvegicus* (rato de esgôto) assinalado na Bahia por COSTA¹⁰; *Rattus rattus rattus* (rato preto), *Rattus rattus alexandrinus* (rato de casa ou pardo), *Oryzomys subflavus subflavus* (rato do algodão), *Galea spixii spixii* (preá) e *Cercomys cunicularius laurentius* (punaré) observados no Ceará por ALENCAR & col.¹; *Mus musculus brevisrostris* (camundongo) e *Cavia porcellus* (cobaia), ambos encontrados em São Paulo por CORRÊA & col.⁹ e *Rattus rattus frugivorus* (rato de paiol), assinalado no Ceará por ALENCAR & col.².

No decurso de nossas investigações sôbre reservatórios silvestres do *T. cruzi*, tivemos oportunidade de examinar 28 exemplares de *Akodon arviculoides cursor* (WINGE, 1885), em dois dos quais o xenodiagnóstico deu resultados positivos.

Trata-se de pequeno roedor pertencente à família *Cricetidae*. O corpo mede 120 mm e a cauda 75 mm, em média. Tem pelagem macia, curta e espessa, de côr pardo-acinzentada no dorso, mais pardacenta nos lados e amarelada nas partes inferiores, sendo que os pêlos do ventre têm a base côr de ardósia. Cabeça delicada, com focinho mais ou menos pontudo e orelhas nuas e pardacentas. Cauda parda e nua. Esta espécie distribui-se pelos Estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo; aqui ocorre tanto no litoral quanto no interior e é relativamente comum. Habita campos, cerrados e bosques, construindo seus ninhos principalmente em touceiras de capim, altas e densas. É encontrado quer na zona rural, quer nas áreas suburbanas, aproximando-se das habitações humanas e suas dependências à procura de alimento (grãos), sobretudo quando êste lhe falta no seu ecótopo natural. Por isto deixa-se caçar em armadilhas com relativa facilidade, tanto de dia como, e principalmente, à noite. É um rato arisco, mas dócil e, em cativeiro, pode ser mantido vivo com facilidade. Nesta circunstância torna-se muito manso, deixando-se pegar pelo tratador, desde que não seja assustado. As fêmeas, fecundadas em a natureza, têm prenhez com decurso normal em cativeiro, párem normalmente e os filhos se desenvolvem até a fase adulta. Nunca,

porém, conseguimos acasalamento em laboratório, nem mesmo entre animais nascidos e criados em cativeiro.

Como dissemos, o xenodiagnóstico revelou a presença de um tripanossomo de evolução posterior, em dois exemplares, que, todavia, se mostraram negativos ao exame a fresco e ao exame de cortes de fragmentos de vários órgãos e tecidos. A partir de um dos ratinhos, conseguimos isolar o referido tripanossomo em camundongos, inoculando-os intraperitonealmente com flagelados presentes no intestino posterior de triatomíneos que serviram para o xenodiagnóstico. Estudos sôbre a morfologia e o comportamento dêste tripanossomo constituem objeto do presente trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

Depois de isolada, a amostra foi mantida em camundongos brancos com idades variáveis entre 18 e 20 dias, mediante reinoculações feitas com intervalos de 10-12 dias. Para isto, usamos a via peritoneal, inoculando 0,2 ml de sangue citratado, obtido por punção cardíaca de doadores na fase aguda da infecção; em cada passagem usamos três camundongos. Nas passagens de números 2, 4, 7 e 10 inoculamos lotes maiores de animais, a fim de estudar o comportamento da infecção. Nestes casos fizemos contagens trissemanais dos tripanossomos sanguícolas pelo método de PIZZI¹⁵, tão logo os animais se tornaram positivos; nos demais, limitamos a verificar a presença de tripanossomos pelo exame a fresco, de sangue colhido da cauda.

A morfologia dos tripanossomos sanguíneos foi estudada em esfregaços de sangue corados pelo Giemsa. Para a pesquisa e estudo das formas tissulares fizemos impressões e cortes de órgãos de camundongos sacrificados durante a fase aguda da infecção; as impressões de órgãos foram coradas pelo Giemsa e os cortes de tecidos pela hematoxilina-eosina.

Provas de imunidade cruzada foram realizadas com camundongos que passaram para a fase crônica de infecção pelo tripanossomo do *Akodon*; êstes animais foram reinoculados por via intraperitoneal com 0,2 ml de sangue de camundongos com alta parasite-

mia, infetados com a amostra Y do *T. cruzi* que, como se sabe, é altamente virulenta. Para servir de testemunhas, camundongos idênticos, mas limpos, foram igualmente inoculados com a amostra Y, recebendo idêntico inóculo por via intraperitoneal.

Para verificar a suscetibilidade de triatomíneos, usamos lotes de ninfas em quinto estágio de *T. infestans*, *T. sordida*, *R. neglectus* e *R. prolixus* que, após prolongado jejum, foram postas para sugar camundongos infetados; procurando evitar variações devidas a diferentes graus de parasitemia nos diversos camundongos usados como fonte de alimentação, distribuímos os triatomíneos em lotes iguais, de modo que cada um tivesse o mesmo número de exemplares de cada espécie. Depois selecionamos de cada lote, apenas as ninfas que se mostravam bem alimentadas, até obtermos 30 exemplares de cada triatomíneo usado. Estas ninfas foram alojadas em caixinhas de papelão, mantidas à temperatura ambiente e examinadas 30 a 40 dias depois do repasto infetante, tendo a pesquisa de flagelados sido feita no conteúdo intestinal obtido por dissecação.

Para o isolamento do tripanossomo em culturas, semeamos duas ou três gotas de sangue de camundongos infetados em meio de MacNeal-Novy.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfologia das formas sanguícolas — Os tripanossomos observados no sangue de camundongos, embora de aspecto algo variável, são semelhantes ao *T. cruzi*: cinetoplasto arredondado e muito próximo da extremidade posterior, membrana ondulante bem marcada, embora delicada e com pequeno número de ondulações, núcleo situado no terço médio do corpo e flagelo livre, curto.

Nas Figs. 1 a 39, apresentamos desenhos de 30 tripanossomos, decalcados de imagens obtidas por projeção direta de preparações sôbre papel, com auxílio de um prisma ocular. Releva notar que êstes tripanossomos foram observados ao acaso, em esfregaços de sangue de diversos camundongos nas várias fases da infecção. A micrometria, efetuada com curvímeter, sôbre aquêles flagelados, forneceu os resultados resumidos no Quadro I.

QUADRO I

Resultados de mensurações feitas sôbre 30 tripanossomos do sangue periférico de camundongos infetados experimentalmente com a amostra do *Akodon arviculoides cursor*

Especificação	Medidas em micra		
	Mínima	Máxima	Média
Comprimento do flagelo	2,0	6,0	3,80
Distância NP	6,0	12,0	8,10
Distância NA	6,0	11,0	8,30
Comprimento do corpo	12,0	18,0	16,50
Comprimento total	16,0	23,0	20,30
Largura do corpo	2,0	5,0	3,38
Diâmetro do cinetoplasto	0,5	1,25	1,05
Relação NP/NA	0,55	1,60	0,98

Pelos desenhos, que constituem amostra do que se passa nas preparações examinadas, verifica-se que há grande predomínio de formas largas e curtas, com aspecto de C ou S. Menos frequentes são as formas mais longas e delgadas, como as representadas nas Figs. 9, 12, 25 e 27. Nunca, porém, observamos as formas bem longas e delgadas, presentes em infecções por outras amostras de origem humana ou animal. Aliás, é o que indicam os resultados resumidos no Quadro I, pelos quais se verifica que a menor largura observada foi de $2,0 \mu$ e que a largura média foi de $3,38 \mu$, bem superior àquelas que se obtêm com outras amostras.

Finalmente, outro aspecto peculiar do tripanossomo do *Akodon* reside no índice nuclear médio, que é de 0,98. Tal índice afasta-se um pouco dos que são habitualmente obtidos para outras amostras, especialmente as de origem humana e se aproxima dos assinalados por DIAS¹³ para o tripanossomo do morcêgo, *Phyllostomus hastatus*, do Brasil; por FLOCH & LAJUDIE¹⁴ para um tripanossomo de *Didelphis marsupialis*, da Guiana Francesa; por DEANE¹² para tripanossomo do roedor *Nectomys squamipes*, do Pará, e por BARRETTO & SIQUEIRA³ para o tripanossomo do marsupial *Lutreolina crassicaudata crassicaudata*, de São Paulo.

Releva notar que não existem estudos biométricos detalhados de amostras humanas de *T. cruzi*, para que se possa saber dos limites de variação das medidas. Todavia, o trabalho de BRENER & CHIARI⁵ parece indicar que variações muito amplas ocorrem. Com efeito, estudando biométricamente a amostra Y, encontramos índice nuclear médio de 0,95, índice este muito próximo do obtido para o tripanossomo do *Akodon*, que cai, assim, dentro dos limites de variação de amostras humanas.

Morfologia das formas tissulares — Em cortes e impressões de órgãos de camundongos encontramos formas em leishmânia em fibras cardíacas (Fig. 40) e em elementos do SRE do baço (Fig. 43).

As formas em leishmânia, nas impressões de órgãos (Figs. 31 a 36), são ovóides ou elipsóides e medem 4 a 7μ de comprimento por 3 a 6μ de largura; têm núcleo arredondado ou ovóide e cinetoplasto em bastonete,

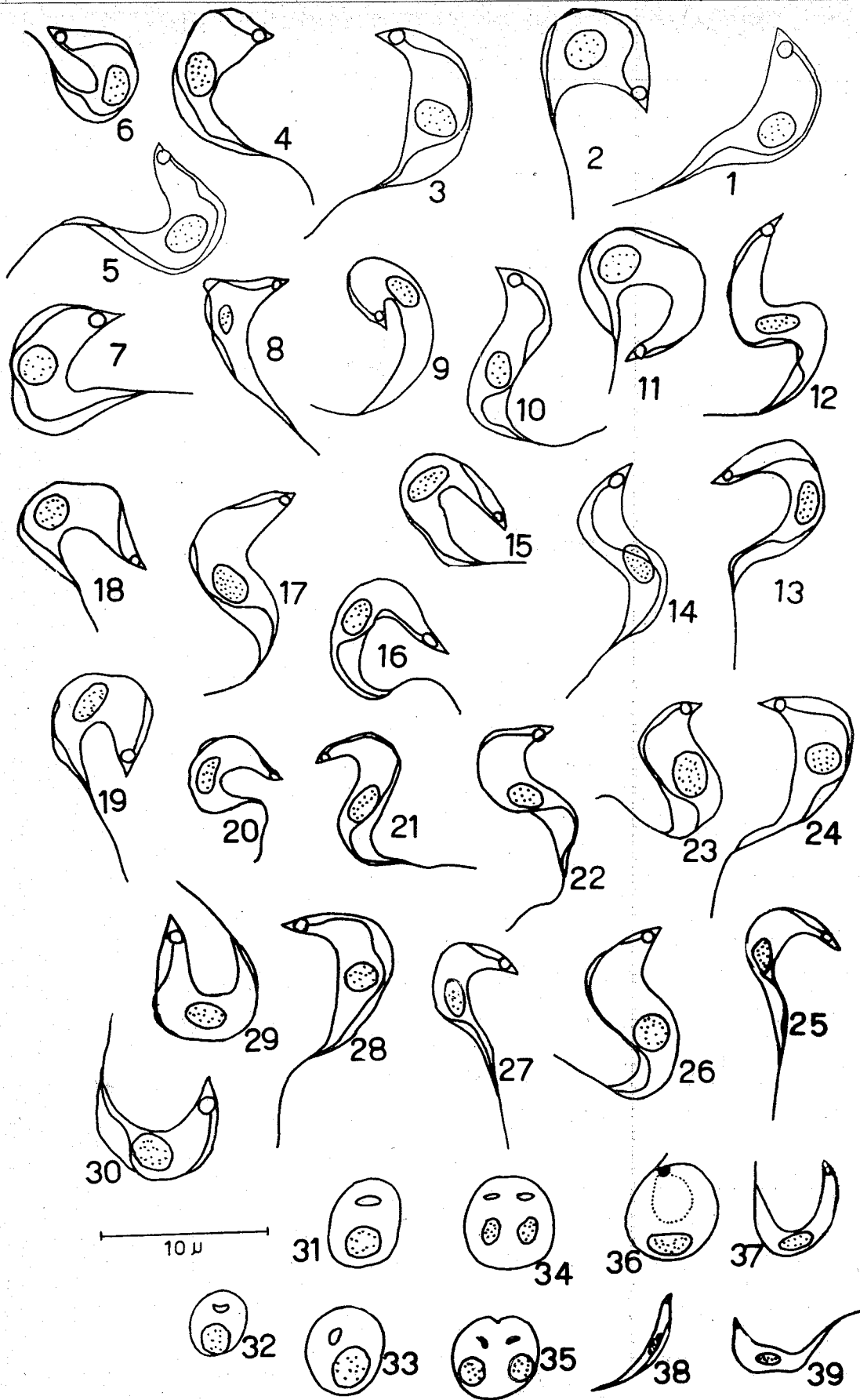
reto ou curvo. Algumas formas são vistas em fase de divisão binária (Figs. 35 e 36) e outras em processo de “desenrolamento”, ostentando o cinetoplasto arredondado em um pólo, o núcleo alongado em outro e, entre ambos, um vacíolo (Fig. 37). Não observamos formas em leptomônade e em critídia.

Infecção de camundongos — Todos os animais inoculados adquiriram a infecção. Para o estudo do comportamento da infecção destinamos 30 camundongos, dentre os constituintes dos lotes inoculados quando do segundo, quarto, sétimo e décimo repiques e referidos no Quadro II. Nestes camundongos fizemos a pesquisa de tripanossomos no sangue a partir do terceiro dia após a inoculação, e, desde que verificada a positividade, fizemos contagens trissemanais. Os caracteres gerais da infecção são resumidos no Quadro II.

Os dados referidos neste quadro mostram que o período prepatente variou de 4 a 9 dias, com média de 6,76 dias. Embora o número de animais de cada lote tenha sido pequeno, verifica-se que há tendência para diminuição deste período, nos repiques sucessivos. Via de regra, a parasitemia foi pequena ou moderada, raramente ultrapassando o nível de 1.000 tripanossomos por mm^3 . Embora variável de animal para animal de cada lote, a parasitemia, que oscilou entre 182 e 1.540 tripanossomos por mm^3 , de modo geral, foi mais baixa nos primeiros repiques. Os níveis parasitêmicos mais elevados entre os camundongos que resistiram à infecção (90%) foram atingidos entre o 8.º e o 33.º dias. Aqui também se verifica que estes níveis máximos foram atingidos mais tardiamente nas primeiras passagens.

A duração da fase aguda nestes animais variou entre 18 e 45 dias. Neste particular, a duração desta fase foi, em geral, maior nos animais usados para os primeiros repiques do que naqueles dos repiques sucessivos.

Sempre com a ressalva de que o número de animais de cada lote é pequeno, parece que os dados que acabamos de comentar indicam menor agressividade do tripanossomo do *Akodon* para camundongos, no decurso das primeiras passagens, isto é, na fase de adaptação. Este fato, aliás de há muito conhecido, foi recentemente focalizado por



Figs. 1 a 30 — Formas em tripanossomo observadas no sangue periférico de camundongos;
 31 a 36 — Formas aflageladas observadas em tecidos de camundongos; 37 a 39 — Formas
 flageladas observadas em tecidos de camundongo.

QUADRO II

Caracteres gerais da infecção de camundongos pela amostra de tripanossomo do *Akodon arviculoides cursor*

Nº do animal	Período prepatente (dias)	Parasitemia máxima		Duração da fase aguda
		Nº/mm ³	Dia	
A-R2-1	9	350	28º	42 dias
A-R2-2	8	266	14º	Faleceu no 21º dia
A-R2-3	8	280	31º	45 dias
A-R4-1	7	182	28º	44 "
A-R4-2	7	266	26º	41 "
A-R4-3	4	427	21º	44 "
A-R4-4	7	280	16º	30 "
A-R4-5	8	189	33º	47 "
A-R4-6	4	350	23º	41 "
A-R4-7	6	42	14º	Faleceu no 16º dia
A-R7-1	4	861	16º	32 dias
A-R7-2	6	581	16º	21 "
A-R7-3	6	1540	14º	21 "
A-R7-4	6	756	11º	18 "
A-R7-5	4	588	16º	18 "
A-R7-6	6	518	14º	30 "
A-R7-7	6	1148	14º	38 "
A-R7-8	7	735	18º	28 "
A-R7-9	6	903	11º	18 "
A-R7-10	7	455	14º	35 "
A-R10-1	6	385	15º	23 "
A-R10-2	6	693	8º	25 "
A-R10-3	6	1267	11º	Faleceu no 16º dia
A-R10-4	4	882	11º	18 dias
A-R10-5	6	714	11º	32 "
A-R10-6	7	462	11º	28 "
A-R10-7	6	1134	11º	25 "
A-R10-8	4	931	11º	18 "
A-R10-9	6	462	8º	23 "
A-R10-10	7	350	20º	37 "

BRENER & CHIARI⁵, ao estudarem o comprimento de amostras do *T. cruzi* de procedências diversas.

Outro fato que merece ser assinalado é que, a despeito de um aumento da parasitemia e da maior precocidade com que o

ápice da curva parasitêmica foi atingido nos repiques sucessivos, não se observou modificação na taxa de mortalidade, o que está de acordo com as observações de DARMAN¹¹, segundo as quais não há correlação entre a virulência e o nível parasitêmico.

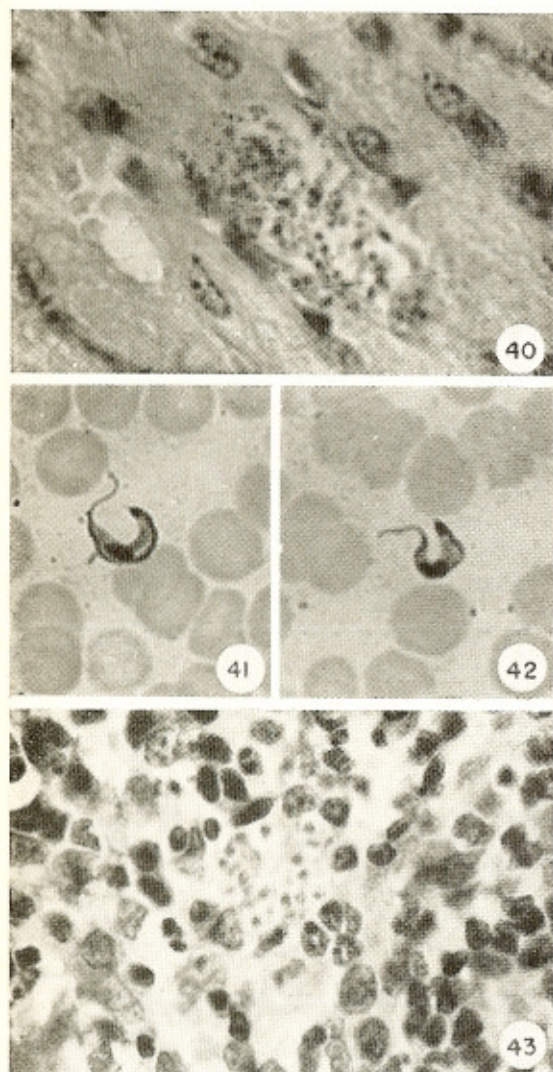


Fig. 40 — Formas em leishmânia no músculo cardíaco (H.E. 800×); Figs. 41 e 42 — Formas em tripanossomo no sangue periférico (Giemsa, 800×); Fig. 43 — Formas em leishmânia, em elementos do S.R.E. do baço (H.E., 800×).

Os tipos de curva parasitêmica variaram de animal para outro; dentro do mesmo lote. De modo geral, porém, caem dentro de um dos quatro tipos seguintes: a) ascensão regular até atingir o acme e, em seguida, queda regular (Gráfico I, A-R4-2); b) ascensão regular e brusca até atingir o ponto máximo e, depois, queda demorada e irregular (Gráfico I, A-R7-1); c) ascensão e queda irregular, com alternância de níveis

parasitêmicos altos e baixos (Gráfico I, A-R2-3). De qualquer modo, ao fim de um período variável entre 18 e 47 dias, o número de tripanossomos circulantes caiu a um nível mínimo, submicroscópico, nos animais que resistiram à infecção, isto é, na generalidade dos casos, como já dissemos. Após a fase aguda raramente se encontram parasitas no sangue, ao exame a fresco.

Provas de imunidade cruzada — Pouco depois da descoberta do *T. cruzi*, já BRUMPT⁹ assinalava que este flagelado confere aos camundongos imunidade contra uma reinfeção. Posteriormente, DARMAN¹¹ demonstrou que a resistência adquirida é maior contra amostra homóloga de que contra uma heteróloga. Posteriormente, diversos Autores têm mostrado que esta proteção é eficaz, mesmo no caso de reinoculações com amostras altamente virulentas, como o fizeram SILVA & NUSSENZWEIG¹² e BRENER⁴ em trabalhos mais recentes realizados com a amostra Y.

Procurando estabelecer relação imunológica entre o *T. cruzi* e o tripanossomo que estudamos, tomamos 15 camundongos cuja infecção pelo tripanossomo do *Akodon* havia passado para a fase crônica e, 15 a 30 dias após a negatização do exame a fresco, os reinoculamos, por via intraperitoneal, com 0,2 ml de sangue citratado obtido de camundongos infetados com a amostra Y e exibindo alta parasitemia. O exame detido dos animais reinoculados, mostrou que nenhum deles teve infecção aparente; 15 camundongos com idades idênticas às dos precedentes, mas não previamente imunizados, inoculados com a amostra Y para servir de testemunhas, tiveram infecções graves, com alta parasitemia e elevada taxa de mortalidade. Isto mostra que a infecção prévia com o tripanossomo do *Akodon* confere alto grau de resistência contra a reinfeção por amostra humana altamente virulenta.

Infecção de triatomíneos — Em trabalho recente, CORRÊA & BARRETTO⁸ discutem o problema da maior suscetibilidade de triatomíneos a amostras locais de tripanossomos. Estudando o comportamento do tripanossomo isolado da *Marmosa agilis agilis*, verificaram que, dos triatomíneos examinados, o

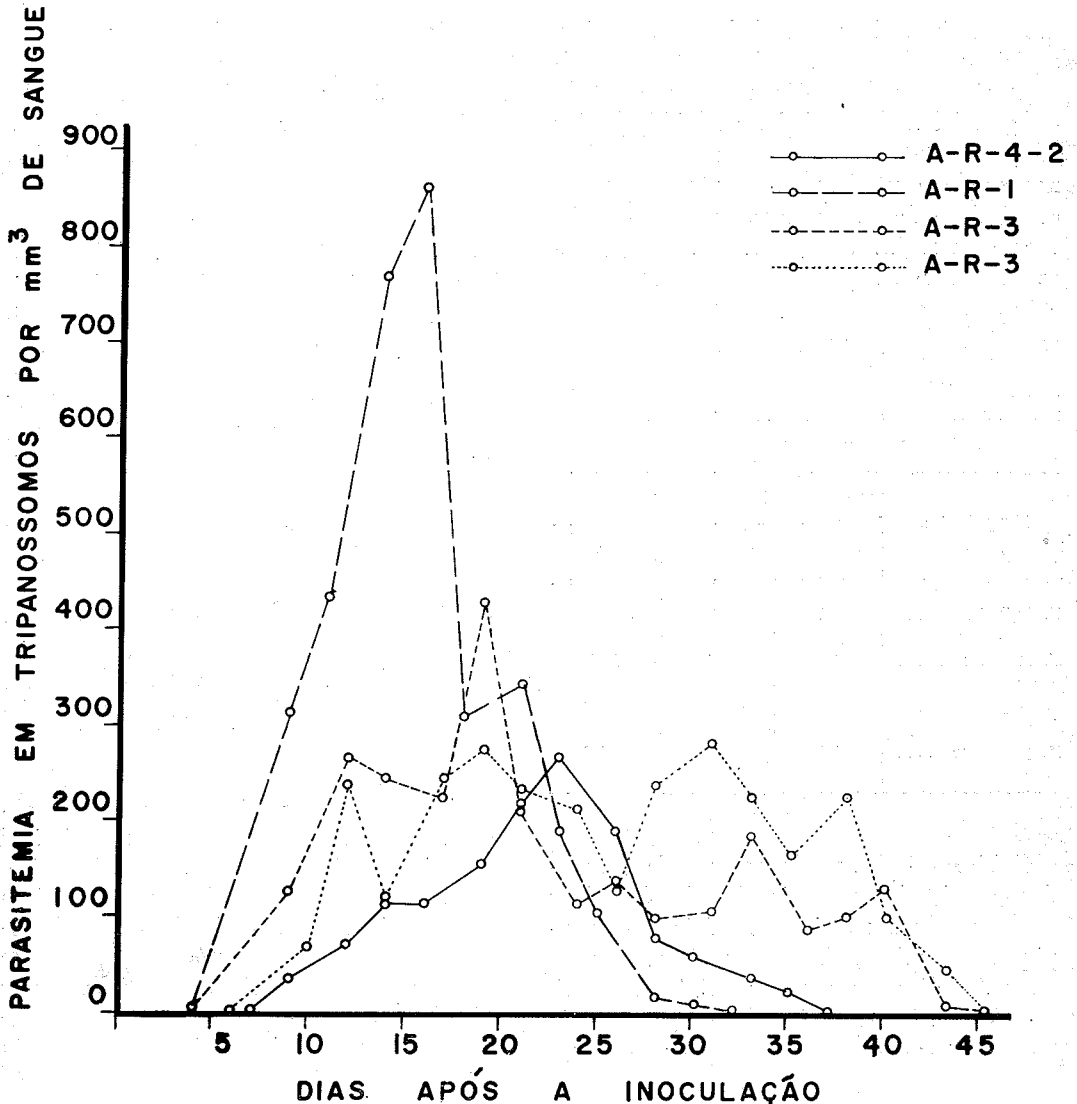


Gráfico I — Tipos de curvas parasitêmicas observadas em camundongos inoculados com a amostra do *Akodon arviculoides cursor*.

T. sordida foi o que se mostrou mais suscetível. Como êste hemíptero é semidoméstico e se encontra com freqüência em associação com vários animais silvestres, entre os quais os marsupiais, concluem que sua maior suscetibilidade talvez se explique por uma adaptação entre êle e os tripanossomos daquele marsupial.

Procurando infetar triatomíneos com o tripanossomo do *Akodon*, utilizamos ninfas em quinto estágio de *T. infestans*, *T. sordida*,

R. neglectus e *R. prolixus*, provenientes de colônias mantidas em nosso Departamento. Tôdas foram alimentadas em camundongos, durante a fase aguda de infecção, como dissemos. Os resultados obtidos são apresentados no Quadro III.

Êstes resultados estão parcialmente de acôrdo com os de CORRÊA & BARRETTO⁸. De fato, o *T. infestans*, espécie comum na região, mas dotada de hábitos domiciliários mais acentuados, foi a que se mostrou me-

nos suscetível. Por outro lado, o *T. sordida*, espécie semidoméstica e freqüente em ecótopos silvestres da região, mostrou-se dotado de grande suscetibilidade, sugerindo maior adaptação entre êste triatomíneo e o tripanossomo que estudamos. Mas, a maior suscetibilidade do *R. prolixus*, espécie que não ocorre na região em que trabalhamos, parece invalidar a hipótese.

QUADRO III

Suscetibilidade de quatro espécies de triatomíneos à amostra de tripanossomo isolada do *Akodon arviculoides cursor*

Espécie	Exemplares alimentados	Exemplares positivos	
		Nº	%
<i>T. infestans</i> ...	30	17	56,6
<i>T. sordida</i>	30	24	80,0
<i>R. neglectus</i> ...	30	20	66,6
<i>R. prolixus</i>	30	26	86,6

Cultivo — Semeando sangue de camundongo infetado em meio de MacNeal-Novy obtivemos bom crescimento inicial. Nos repiques sucessivos, feitos com intervalos de 15 a 20 dias, as culturas exibiram crescimento luxuriante.

CONCLUSÃO

A despeito do índice nuclear pequeno e da grande largura, os caracteres morfológicos do tripanossomo que estudamos são semelhantes aos do *T. cruzi*. Por outro lado, a multiplicação intratissular sob a forma de leishmânia, a patogenicidade para camundongos e a sensibilidade de triatomíneos, no intestino posterior dos quais aparecem formas metacíclicas, mostram comportamento biológico idêntico ao do *T. cruzi*. Êstes elementos todos, aliados aos resultados das provas de imunidade cruzada, nas quais verificamos que a infecção prévia pelo tripanossomo em estudo confere aos camundongos gran-

de resistência contra reinfecção por amostra humana dotada de grande virulência, levamos a identificar êste tripanossomo com *T. cruzi* e a considerar o *Akodon arviculoides cursor* como nôvo reservatório do parasita.

SUMMARY

Natural infection of the rodent, Akodon arviculoides cursor (Winge, 1885) by a cruzi-like trypanosome

A *cruzi*-like trypanosome was isolated through xenodiagnosis from *Akodon arviculoides cursor* (Winge, 1885), captured in Ribeirão Preto, State of São Paulo, Brazil. No trypanosomes or leishmaniae were found in blood wet-films or in tissue sections and imprints. But baby mice, inoculated intraperitoneally with flagellates from the intestine of triatomines used in xenodiagnosis, became infected and showed trypanosomes morphologically similar to *T. cruzi* in the blood and leishmanial forms in sections of the heart and spleen.

Infection of baby mice was regularly obtained through intraperitoneal inoculation of blood from infected donors. All the mice, after a prepatent period of four to nine days (mean 6.76 days) showed a low to moderate parasitemia, with a peak at the 8th to the 33th day after inoculation. Ten per cent of the mice died from the infection. A variable number of leishmaniae was seen in tissue sections and imprints of heart and spleen.

Cross-immunity tests showed that a previous infection with the *Akodon*-strain confers a complete resistance to mice against a highly virulent human strain of *T. cruzi* (Y strain).

Cultures in MacNeal-Novy's medium were obtained from blood of infected mice.

Infection of four species of triatomines was obtained and the following infection-indices observed: *Triatoma infestans*, 56.6 per cent; *Triatoma sordida*, 80 per cent; *Rhodnius prolixus*, 86.6 per cent and *Rhodnius neglectus* 66.6 per cent.

FERRIOLLI FILHO, F. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. VI. Infecção natural do roedor *Akodon arviculoides cursor* (WINGE, 1885) por tripanossomo semelhante ao *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 7:72-81, 1965.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALENCAR, J. E.; PESSÓA, E. P.; SHERLOCK, V. R. A.; TOMÉ, G. S. & CUNHA, R. V. — Estudos sobre a epidemiologia da doença de Chagas no Ceará. I — Dados preliminares. *Rev. brasil. malariol. doenças trop.* (Rio de Janeiro) 14:201-220, 1962.
2. ALENCAR, J. E.; ALMEIDA, J. O.; SHERLOCK, V. R. A.; FRANÇA, A. P. & LEITE, L. — Estudos sobre a epidemiologia da doença de Chagas no Ceará. II — Novos dados. *Rev. brasil. malariol. doenças trop.* (Rio de Janeiro) 15:551-565, 1963.
3. BARRETTO, M. P. & SIQUEIRA, A. F. — Infecção natural da *Lutroolina crassicaudata crassicaudata* pelo *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 4:358-365, 1962.
4. BRENNER, Z. — Observações sobre imunidade a superinfecções de camundongos experimentalmente inoculados com *Trypanosoma cruzi* e submetidos a tratamento. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 4:119-123, 1962.
5. BRENER, Z. & CHIARI, E. — Variações morfológicas observadas em diferentes amostras de *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 5:220-224, 1963.
6. BRUMPT, E. — Immunité partielle dans les infections à *Trypanosoma cruzi*, transmission de ce *Trypanosoma* par *Cimex rotundatus*: rôle régulateur des hôtes intermédiaires; passage à travers la peau. *Bull. Soc. path. exot.* 6:172-176, 1913.
7. CHAGAS, E. — Summula dos conhecimentos actuaes sobre a Trypanosomiasis americana. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 30:387-416, 1935.
8. CORRÊA, F. M. A. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. III — Infecção natural do marsupial *Marmosa agilis agilis* por tripanossomo semelhante ao *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 6:157-166, 1964.
9. CORRÊA, R. R.; SILVA, E. O. R. & SCHIAVI, A. — Observações sobre o *Panstrongylus megistus*, transmissor da moléstia de Chagas (Hemiptera, Reduviidae). *Arq. hig. e saúde públ.* 28:165-174, 1963.
10. COSTA, A. L. — *Triatomíneos e tripanossomas por eles veiculados em zona central da cidade de Salvador, Bahia*. Tese. Fac. Med. Univ. Bahia, Salvador, 1955.
11. DARMAN, M. — Multiplication du *Trypanosoma cruzi* dans le sang périphérique de la souris par passages successifs. Recherche de la prémunition vis-à-vis des souches homologues et hétérologues. *Ann. Parasit. Hum. Comp.* 18:166-179, 1941.
12. DEANE, L. M. — Sobre um tripanossomo do tipo *cruzi* encontrado num rato silvestre, no Estado do Pará. *Rev. brasil. malariol. doenças trop.* (Rio de Janeiro) 12:87-102, 1960.
13. DIAS, E. — Sobre um *Schizotrypanum* dos morcêgos *Lonchoglossa ecaudata* e *Carollia perspicillata* do Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 35:399-409, 1940.
14. FLOCH, H. & LAJUDIE, P. — Schizotrypanosomiase humaine et schizotrypanosomes. *Publ. Inst. Pasteur Guyane* 67:1-6, 1943.
15. PIZZI, T. — *Immunología de la enfermedad de Chagas*. Santiago, Universidad de Chile. Colección de monografías biológicas de la Universidad de Chile, nº 7, 1957, 183 págs.
16. SILVA, L. H. P. & NUSSENZWEIG, V. — Sobre uma cêpa de *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para o camundongo branco. *Folia Clin. & Biol.* 20:191-203, 1953.

Recebido para publicação em 14/8/1964.