

## ESTUDOS SÔBRE RESERVATÓRIOS E VETORES SILVESTRES DO *TRYPANOSOMA CRUZI*

### III. Infecção natural do marsupial *Marmosa agilis agilis* por tripanossomo semelhante ao *T. cruzi*.

Fernando M. A. CORRÊA (1) e Mauro Pereira BARRETTO (2)

#### RESUMO

Tripanossomo semelhante ao *T. cruzi* foi isolado por xenodiagnóstico de *Marmosa agilis agilis* (Burm., 1854), procedente do Município de Morro Agudo, Estado de São Paulo. No conteúdo intestinal de ninfas de *Triatoma infestans* nele alimentadas, foram encontradas crídiás e tripanossomos. Este material foi inoculado em camundongos que, posteriormente, apresentaram tripanossomos no sangue e leishmânias nas vísceras; a infecção foi mantida por subinoculações. A maioria dos camundongos, após períodos prepatentes de 4 a 8 dias (média 6,13), apresentou infecção leve, sem nenhum caso de morte decorrente da infecção. O exame de alguns camundongos revelou ninhos de leishmânias no coração.

Provas de proteção em camundongo, feitas com esta amostra, revelaram que ela confere grande resistência a posterior infecção com amostra humana ("Y") do *T. cruzi*.

A diferença de suscetibilidade de várias espécies de triatomíneos face a esta amostra de tripanossomo foi estudada, tendo sido verificados os seguintes índices: *Triatoma sordida*, 18,3%, *Rhodnius neglectus*, 13,3%, *Rhodnius prolixus*, 13,3% e *Triatoma infestans*, 3,3.

#### INTRODUÇÃO

A infecção natural de diversos marsupiais pelo *Trypanosoma cruzi* tem sido assinalada no Brasil por vários autores. Assim, RODRIGUES & MELLO<sup>13</sup>, GUIMARÃES & JANSEN<sup>10</sup> e DEANE<sup>6</sup> verificaram a do *Didelphis marsupialis*; FREITAS<sup>9</sup> e SIQUEIRA, MAGALHÃES & RÊGO<sup>15</sup> a do *Didelphis aurita*; DEANE & DEANE<sup>7</sup> e LEAL, FERREIRA & MARTINS<sup>11</sup> a do *Didelphis azarae azarae*; GUIMARÃES & JANSEN<sup>10</sup> a do *Metachirus nudicaudatus*; DEANE & JANSEN<sup>8</sup> e DEANE<sup>6</sup> a da *Marmosa cinerea*; BARRETTO & SIQUEIRA<sup>1</sup> a da *Lutreolina crassicaudata crassicaudata*.

Entre os animais que temos examinado no decurso de nossas investigações sobre reservatórios silvestres do *T. cruzi* contamos com um exemplar de *Marmosa agilis agilis* (Burm., 1854) capturado pelo Sr. Eduardo Junqueira, no Município de Morro Agudo, SP.

O gênero *Marmosa* GRAY, 1821, da família *Didelphidae*, compreende pequeninos marsupiais desprovidos de bolsa marsupial, com orelhas grandes, olhos grandes e salientes, cauda longa e preênsil e pelagem macia e

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

(1) Professor assistente.

(2) Professor catedrático.

mais ou menos lanosa. Abrange numerosas espécies distribuídas por quase tóda a Região Neotropical. No Brasil, onde ocorrem 18 espécies, são conhecidos por gambá-mirim, cuíca, chichica ou jupati. São relativamente raros e habitam de preferência matas ou capoeiras, sendo, às vèzes, encontrados nas proximidades de habitações humanas. De hábitos noturnos, escondem-se durante o dia em locas, ôcos de árvores ou ninhos construídos de fôlhas sêcas, palha ou capim. Alimentam-se de pequenos mamíferos e sobretudo de pássaros que capturam com facilidade, apesar de sua relativamente pequena agilidade.

A *Marmosa agilis agilis* (fig. 49) tem o corpo com cêrca de 10 cm de comprimento, sendo a cauda um pouco mais longa. Seu dorso é cinzento, ligeiramente pardacento, as partes inferiores do corpo são pardo-amareladas e os pés rosados. A cabeça é cinzenta na parte superior e pardo-amarelada na parte inferior, com uma mancha preta ao redor dos olhos. É pouco agressiva e, embora seja uma das espécies mais ágeis, como o nome indica, corre pouco e se deixa capturar facilmente. Sobe em árvores com pouca desenvoltura, mas caça passarinhos que constituem a base de sua alimentação em natureza. Em cativeiro come frutas, carne e outros alimentos que lhe são oferecidos.

O exemplar acima referido não mostrava flagelados no sangue circulante, nem formas em leishmânias em esfregaços e cortes de órgãos obtidos por autópsia, mas o xenodiagnóstico, feito em dias sucessivos com 10 ninfas de *Triatoma infestans*, permitiu o isolamento de um tripanossomo semelhante ao *T. cruzi*, cujo estudo constitui o objeto do presente trabalho.

#### MATERIAL E METODOS

Depois de obtida a infecção de camundongos jovens mediante a inoculação subcutânea de fezes de triatomíneos usados para o xenodiagnóstico, a amostra foi mantida em camundongos de cêrca de 20 dias de idade. Para isto usou-se a via peritoneal, inoculan-

do-se 0,2 ml de sangue de animais infectados colhido durante a fase ascencional da infecção.

Os camundongos inoculados foram examinados diàriamente a partir do segundo dia após a inoculação; a parasitemia dêstes animais foi estudada, procedendo-se a contagens trissemanais pelo método preconizado por PIZZI<sup>12</sup>. Outros camundongos inoculados foram sacrificados em diversas fases da infecção com a finalidade de estudar o parasitismo tissular, em esfregaços de órgãos corados pelo Giemsa ou em cortes de órgãos fixados em formol e corados pela hematoxilina-eosina.

Para provas de proteção, camundongos com infecção crônica pela amostra "Marmosa" foram inoculados intraperitonealmente com sangue de camundongos infectados com a amostra "Y", de origem humana e dotada de alta agressividade para aquêles animais.

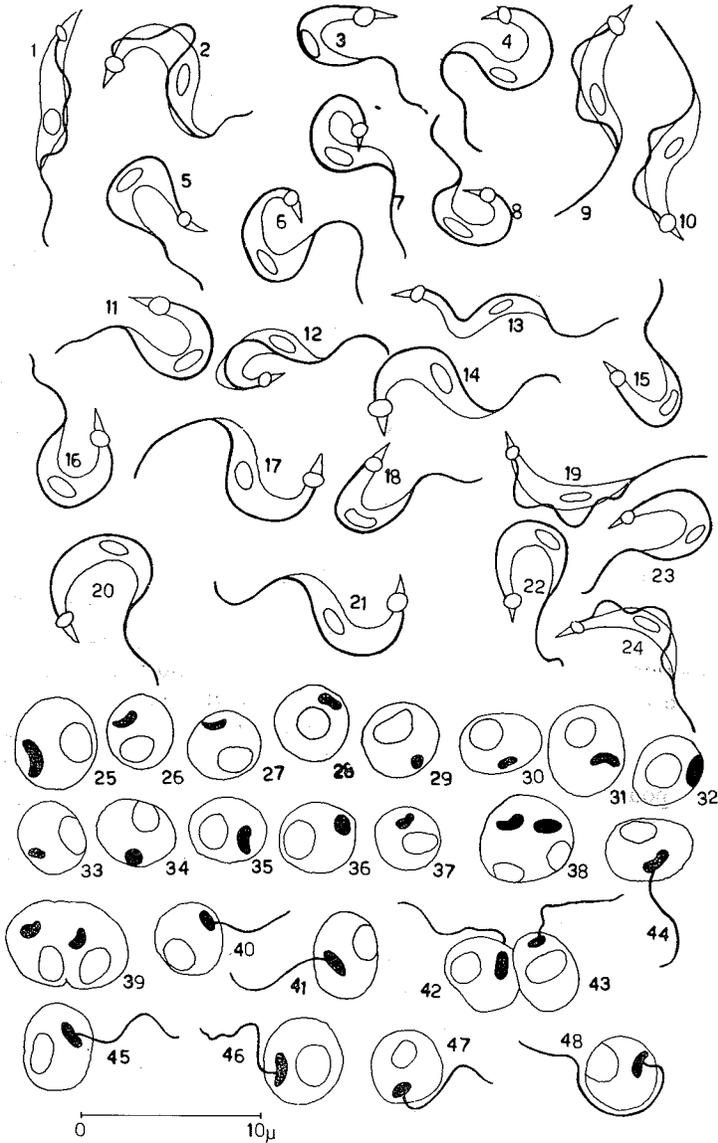
Semeaduras em meio de MacNeal-Novy foram feitas com sangue de camundongos infectados.

Finalmente, lotes de ninfas de *Triatoma infestans*, *Triatoma sordida*, *Rhodnius neglectus* e *Rhodnius prolixus* foram alimentados em camundongos experimentalmente infectados, com a finalidade de estudar a suscetibilidade dêstes triatomíneos.

#### RESULTADOS

*Morfologia das formas sanguícolas.* Como dissemos, no sangue da *Marmosa* não foram encontrados flagelados e, assim, o estudo morfológico dêstes flagelados teve que ser feito em esfregaços de sangue de camundongos experimentalmente infectados.

Nestes, os tripanossomos apresentaram-se com aspecto algo variável, mas sempre semelhantes ao do *T. cruzi* (Figs. 1 a 24 e 52-53): extremidade posterior curta e pontiaguda, cinetoplasto arredondado ou ovóide e grande, com diâmetro superior à largura do flagelado ao nível desta estrutura; núcleo ovóide, mais ou menos alongado, mais próximo da extremidade anterior que da posterior; membrana ondulante nítida, estreita e com poucas ondulações, às vèzes apenas sinuosa.



Figs. 1 a 24 — Tripanossomos observados no sangue circulante de camundongos experimentalmente infectados. Figs. 25 a 48 — Flagelados observados em impressões de órgãos de camundongos experimentalmente infectados.

A micrometria efetuada com curvímeter sôbre desenhos feitos com câmara clara e ampliados por projeção, deu os resultados apresentados no quadro I.

Nas preparações de sangue encontram-se formas largas, formas delgadas e formas intermediárias, em proporções variáveis. As

formas curtas e largas, que geralmente predominam, apresentam-se com aspecto de C ou S, têm cinetoplasto mais próximo da extremidade posterior, núcleo elipsóide, membrana ondulante, embora estreita, bem perceptível, e o flagelo livre relativamente longo, medindo até um têrço do comprimento total do parasito.

QUADRO I

Resultados de mensurações feitas sobre 25 tripanossomos do sangue periférico de camundongos experimentalmente infectados com a amostra da *Marmosa agilis agilis*.

Mensurações	Medidas em micra		
	Mínima	Máxima	Média
Comprimento do flagelo .....	2,0	6,5	4,65
Distância NP .....	5,0	7,5	6,32
Distância NA .....	2,5	4,5	3,58
Comprimento do corpo .....	8,5	12,0	10,06
Comprimento total (inclusive flagelo) .....	13,0	17,5	14,94
Largura do corpo .....	1,0	2,0	1,31
Diâmetro do cinetoplasto .....	0,5	1,0	0,85
Relação NP/NA .....	1,33	2,7	1,79

As formas delgadas são mais sinuosas e podem ter até 1  $\mu$  de largura; seu cinetoplasto fica mais afastado da extremidade posterior; o núcleo é mais alongado e o flagelo livre relativamente mais curto.

*Morfologia dos elementos tissulares.* O exame de cortes histológicos de tecidos e órgãos de camundongos inoculados mostrou a presença de ninhos de leishmânias em fibras cardíacas (Figs. 54-55). Êste parasitismo foi pequeno, observando-se apenas uma ou outra fibra parasitada.

Nas impressões de órgãos, as leishmânias que se apresentam intracelulares ou livres, são em geral, ovóides ou elipsóides (Figs. 25-37) medindo 3-6,5  $\mu$  de comprimento por 2,5-4,5  $\mu$  de largura; às vezes mostram-se arredondadas. Estas leishmânias apresentam cinetoplasto grande, com forma de bastonete reto ou encurvado e núcleo arredondado. Diversas leishmânias em fase de divisão binária foram observadas (Figs. 38-39). Muitas formas arredondadas ou ovóides, dotadas de flagelo curto foram também vistas (Figs. 40-48). Não se observaram formas em leptômonas ou elementos critidionômorficos.

*Infecção de camundongos.* Três camundongos brancos inoculados com flagelados

do tubo digestivo de triatomíneos usados para xenodiagnóstico adquiriram a infecção, apresentando tripanossomos no sangue periférico, 14 dias após a inoculação. A partir destes animais, a infecção foi mantida em camundongos com cerca de 20 dias de idade, através de passagens sucessivas. Nos repiques 3, 4 e 6 usamos lotes de respectivamente 20, 10 e 17 camundongos; 30 destes foram mantidos em observação fazendo-se o controle trissemanal da parasitemia. Os caracteres gerais da infecção nestes camundongos são apresentados no Quadro II.

Por êste quadro se verifica que o período prepatente variou de 4 a 8 dias (média 6,13 dias). A parasitemia, na maioria dos casos foi pequena ou moderada, tendo se mostrado mais elevada nos animais do lote 4. Mas, mesmo neste lote, ela raramente ultrapassou o nível de 2000 parasitos por  $\text{mm}^3$  no acme de infecção. A parasitemia máxima foi atingida geralmente entre o 12.º e o 18.º dia após a inoculação.

A despeito de variações individuais, mesmo dentro de um dado lote, as curvas parasitemicas, via de regra, mostraram a mesma configuração geral. Na figura 56 apresentamos quatro tipos de curvas observadas. Às vezes, a parasitemia sobe regularmente, atinge o máximo e, depois, cai também re-

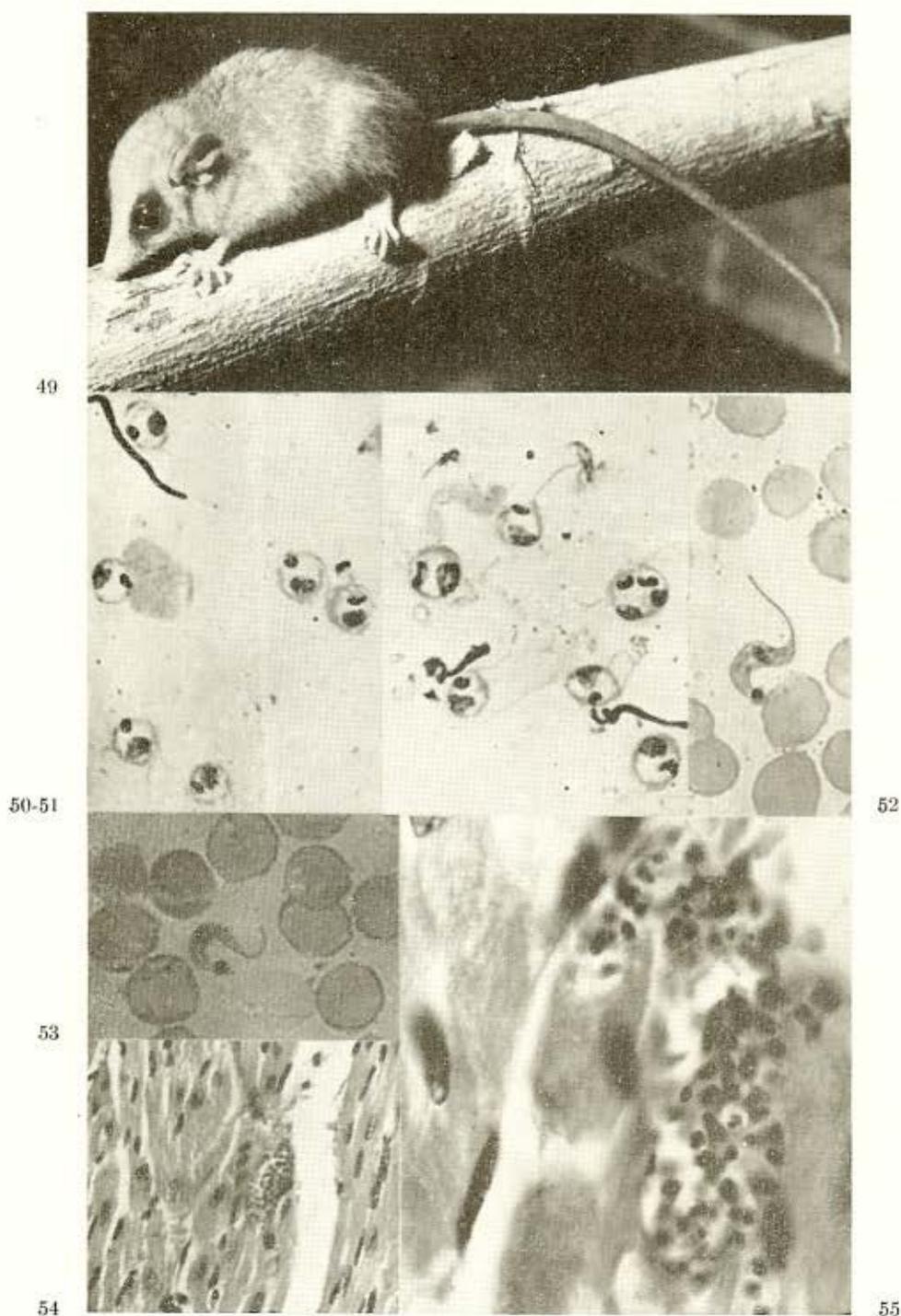


Fig. 49 — *Marmosa agilis agilis*. Figs. 50 e 51 — Flagelados observados em impress6es de 6rg6os de camundongos. Figs. 52 e 53 — Tripanossomos presentes no sangue perif6rico de camundongos. Figs. 54 e 55 — Ninhos de leishm6nias em corte de coraç6o de camundongos.

QUADRO II

Caracteres gerais da infecç6o de camundongos pela amostra de tripanossomo da *Marmosa agilis agilis*.

N.º do animal	Período prepatente (dias)	Parasitemia máxíma		Observaç6es s6bre a parasitemia
		Nº/mm³	Dia	
M-R3-6	6	315	14º	Negativou-se no 34º dia
M-R3-7	6	308	14º	Negativou-se no 34º dia
M-R3-8	6	371	14º	Positivo ainda no 45º dia
M-R3-10	6	252	12º	Negativou-se no 36º dia
M-R3-11	6	287	12º	Negativou-se no 31º dia
M-R3-13	6	231	10º	Negativou-se no 31º dia
M-R3-17	6	266	8º	Negativou-se no 31º dia
M-R3-18	6	322	12º	Negativou-se no 31º dia
M-R3-19	6	371	12º	Negativou-se no 20º dia
M-R3-20	6	518	14º	Negativou-se no 43º dia
M-R4-1	7	1463	12º	Negativou-se no 24º dia
M-R4-2	7	889	12º	Negativou-se no 24º dia
M-R4-3	7	2044	19º	Positivo ainda no 38º dia
M-R4-4	7	2114	19º	Negativou-se no 28º dia
M-R4-5	7	1022	19º	Negativou-se no 33º dia
M-R4-6	7	714	12º	Negativou-se no 24º dia
M-R4-7	7	686	12º	Negativou-se no 28º dia
M-R4-8	7	1526	12º	Positivo ainda no 38º dia
M-R4-9	7	665	12º	Positivo ainda no 38º dia
M-R4-10	7	1232	12º	Negativou-se no 38 dia
M-R6-1	6	112	13º	Positivo ainda no 34º dia
M-R6-3	4	312	18º	Positivo ainda no 34º dia
M-R6-4	4	305	18º	Negativou-se no 29º dia
M-R6-6	4	347	20º	Positivo ainda no 34º dia
M-R6-7	4	105	13º	Negativou-se no 27º dia
M-R6-8	8	280	18º	Negativou-se no 27º dia
M-R6-9	4	420	18º	Negativou-se no 27º dia
M-R6-10	6	420	18º	Positivo ainda no 34º dia
M-R6-11	8	396	18º	Positivo ainda no 34º dia
M-R6-16	6	217	15º	Negativou-se no 34º dia

gularmente (Fig. 56, M-R3-7). Outras vezes, a curva parasitêmica, depois de atingir o ponto máximo, cai menos bruscamente e com algumas irregularidades (Fig. 56, M-R4-7). Em outros casos há irregularidades tanto na ascensão como na queda da parasitemia (Fig. 56, M-R6-10). Mais raramente a curva parasitêmica se mostra irregular, com alternâncias de níveis parasitêmicos altos e baixos (Fig. 56, M-R6-3). Em qualquer caso, decorrido um período variável entre 27 e 34 dias após a inoculação, a parasitemia cai a níveis submicroscópicos, sendo o exame a fresco negativo. Muito raramente os parasitos permanecem visíveis no sangue circulante por mais tempo e assim mesmo em números pequenos; em um único caso (animal M-R3-8) ainda se encontravam flagelados no 45.º dia após a inoculação, que foi o prazo máximo durante o qual se fizeram contagens. Mister se faz assinalar, porém, que, uma vez superada a fase aguda, tripanossomos podem ser esporadicamente encontrados no exame a fresco e o xenodiagnóstico, praticado durante a fase crônica, pode dar resultados positivos.

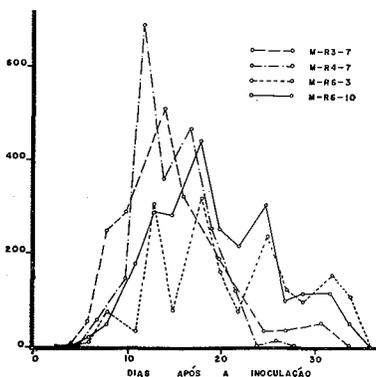


Fig. 56 — Curvas de parasitemia observadas em camundongos inoculados com a amostra "Marmosa" (V. quadro II).

Todos os animais resistiram bem à infecção, mesmo quando a parasitemia se mostrou mais elevada. Nem um só morreu, havendo a infecção evoluído mais ou menos rapidamente para a cronicidade em todos os casos.

*Provas de proteção.* Como se sabe, os animais que se recuperam de uma infecção aguda pelo *T. cruzi*, tornam-se resistentes

frente a reinoculações, fato êste observado mesmo com amostras muito virulentas dêste flagelado, como se depreende das observações de SILVA & NUSSENZWEIG<sup>14</sup> e de BRENER<sup>2</sup>, que trabalharam com a amostra Y. Procuramos, então, verificar se camundongos previamente infectados com o tripanossomo da *Marmosa* apresentariam resistência contra ulterior infecção pela referida amostra Y.

Com êste objetivo, 20 camundongos, com 75 dias de idade, cuja infecção pela amostra "Marmosa" havia evoluído para acronicidade, foram inoculados intraperitonealmente com 0,2 ml de sangue citratado proveniente de camundongos infectados com a amostra Y e com parasitemia muito alta. Como testemunhas, inoculamos, na mesma ocasião e com o mesmo inóculo, 10 camundongos limpos, cujo peso e idade eram equivalentes aos do lote anterior.

O exame dêstes animais mostrou que os 20 camundongos que tiveram infecção prévia pelo tripanossomo de *Marmosa* conservaram-se negativos durante o período em que foram observados, isto é, 30 dias a partir da data da reinoculação. Todos os 10 camundongos que serviram de testemunhas tiveram infecção grave, com parasitemia elevada; cinco morreram entre o 8.º e o 12.º dia e nos outros cinco a infecção evoluiu para a cronicidade.

Estas provas sugerem que o tripanossomo da *Marmosa* confere aos camundongos grande resistência contra a infecção por uma amostra humana dotada de grande agressividade, como é a amostra Y.

*Infecção de triatomíneos.* Como dissemos, a amostra "Marmosa" foi isolada através do xenodiagnóstico. Mas, de dez ninfas de *T. infestans* que sugaram o marsupial, apenas duas continham elementos critidiomórficos e tripanossomos metacíclicos no intestino posterior, 45 dias após a realização do xenodiagnóstico.

Em diversas ocasiões já tivemos nossa atenção despertada para diferenças de comportamento de várias espécies de triatomíneos frente a uma dada amostra de *T. cruzi*.

Aliás, DIAS<sup>3</sup>, em uma comunicação ao 3.º Congresso Internacional de Microbiologia, mostrou, em termos de porcentagem de

infecção, a menor suscetibilidade do *Rhodnius prolixus* a uma amostra humana brasileira do *T. cruzi* do que a de outras espécies de triatomíneos do Brasil.

O próprio DIAS<sup>4</sup>, trabalhando com uma amostra de *T. cruzi* da Venezuela, país onde o *R. prolixus* é seu principal transmissor, conseguiu inverter os resultados anteriores, concluindo que existem variações de adaptação do parasito ao hospedeiro, que se traduzem por uma maior facilidade de infectar determinada espécie ou espécies de triatomíneos com as amostras locais de *T. cruzi*. Dêste fato decorreu o conceito de que “deve preferir-se, para o xenodiagnóstico em determinada região, uma espécie local, ou melhor, o transmissor natural mais importante da moléstia nessa região”.

ZELEDON & VIETO<sup>16</sup>, estudando a suscetibilidade de várias espécies de triatomíneos a uma amostra costarrriquenha de *T. cruzi*, verificaram que, enquanto a espécie originária do país, o *T. dimidiata*, se infectou em 76,4% dos casos, outras espécies de procedência exótica se infectaram nas seguintes percentagens: *T. infestans* — 86,4%; *T. phyllosoma* — 83,5%, *R. prolixus* — 100% e *R. pallenscens* — 94,3%.

Procuramos verificar se haveria diferenças de suscetibilidade de várias espécies de triatomíneos à amostra de tripanossomo originária da *Marmosa agilis agilis*.

Os insetos utilizados, todos provenientes de colônias mantidas em nosso Departamento, foram os seguintes: *T. infestans*, *T. sordida*, *R. neglectus* e *R. prolixus*. Empregamos, em todos os casos, ninfas de 5.º estágio, mantidas sempre em jejum por um período de um mês. Formamos vários lotes de insetos, misturando as espécies, e o repasto sanguíneo lhes foi oferecido, ao mesmo tempo, em camundongos apresentando parasitemia apreciável, ou seja cêrca de 400 tripanossomos por milímetro cúbico de sangue.

Os insetos que não se mostravam suficientemente cheios de sangue foram eliminados do grupo, garantindo-se, assim, a ingestão de uma razoável quantidade de sangue e, conseqüentemente, de flagelados. Os triatomíneos alimentados foram conservados em pequenas caixas de papelão recobertas com um pedaço de malha fina e examinados 45 dias depois do repasto infectante.

No quadro III apresentamos os resultados globais obtidos.

#### QUADRO III

Suscetibilidade de quatro espécies de triatomíneos à amostra de tripanossomo da *Marmosa agilis agilis*.

Espécie	Exemplares alimentados	Exemplares positivos	
		Nº	%
<i>T. infestans</i>	60	2	3,3
<i>T. sordida</i>	60	11	18,3
<i>R. neglectus</i>	60	8	13,3
<i>R. prolixus</i>	60	8	13,3

Este quadro indica que a espécie que se mostrou mais suscetível foi o *T. sordida*, cujo índice foi de 18,3%. Este resultado talvez encontre explicação no fato de ser o *T. sordida* uma espécie semi-doméstica, muito encontrada em ecótopos silvestres em associação com vários animais, principalmente aves, roedores e marsupiais. Já o *T. infestans* espécie quase exclusivamente domiciliar, mostrou-se pouco suscetível (índice: 3,3%), o que sugeriria menor adaptação entre o hospedeiro intermediário e os tripanossomos de animais silvestres.

*Cultivo.* Tentativas de cultivo feitas a partir de sangue da *Marmosa* deram resultados negativos. Semeando, porém, sangue de camundongos infectados em meio de MacNeal-Novy, conseguimos culturas. Neste meio a amostra vem sendo facilmente mantida, e as culturas se mostram sempre muito ricas em flagelados.

#### DISCUSSÃO

Embora um pouco menor, em média, do que a maioria dos tripanossomos isolados de animais pelos diversos autores, e do que muitas amostras humanas, e a despeito do índice nuclear relativamente grande, as medidas obtidas para o tripanossomo ora isolado da *Marmosa agilis agilis* caem dentro

dos limites de variação do *T. cruzi*, aproximando-se daquelas de uma amostra humana que vimos mantendo no laboratório, a amostra "Prêmio".

Os caracteres morfológicos das formas sanguíneas e a multiplicação nos tecidos sob a forma de leishmânias, aliados à patogenicidade para camundongos e à infectividade para triatomíneos, levam-nos a identificar, provisoriamente, como *T. cruzi* o tripanossomo ora estudado, e a considerar a *Marmosa agilis agilis* como um novo reservatório deste parasito. Reforçam nossa conclusão os resultados obtidos com as provas de proteção, nas quais verificamos que uma infecção prévia pelo referido tripanossomo confere grande resistência contra a infecção com amostra de *T. cruzi* de origem humana (amostra Y) dotada de grande agressividade para o camundongo.

#### SUMMARY

*Studies on wild reservoirs and vectors of Trypanosoma cruzi; III. Natural infection of the marsupial, Marmosa agilis agilis by a cruzi-like trypanosome.*

A trypanosome was isolated through xenodiagnosis from a marsupial, *Marmosa agilis agilis*, captured in Morro Agudo, State of São Paulo, Brazil. No trypanosomes or leishmaniae were seen in blood wet-films or in tissue sections and imprints of organs of this animal. But mice inoculated with flagellates from the triatomines used in xenodiagnosis showed trypanosomes morphologically identical to *T. cruzi* in the blood and leishmanial forms in tissue sections.

Infection of baby mice was regularly obtained through intraperitoneal inoculation of blood. All of them, after a prepatent period of 4 to 8 days (mean, 6.1 days), showed a low to moderate parasitemia, with a peak at the 12th to the 18th day after inoculation. No mice died from the infection which evolved to chronicity. A variable number of leishmaniae were seen, specially in the heart of animals killed during the acute fase of infection.

A previous infection with the *Marmosa*-train confers a complete resistance to mice

against the highly virulent Y-strain of human origin.

Infection of four species of triatomines was obtained, and the following infection-rates were observed: *Triatoma sordida*, 18.3%, *Rhodnius neglectus*, 13.3%, *Rhodnius prolixus*, 13.3%, and *Triatoma infestans*, 3.3%.

#### BIBLIOGRAFIA

1. BARRETTO, M. P. & SIQUEIRA, A. F. de — Infecção natural da *Luttreolina crassicaudata crassicaudata* pelo *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 4:358-365, 1962.
2. BRENER, Z. — Observações sôbre a imunidade a superinfecções em camundongos experimentalmente inoculados com *Trypanosoma cruzi* e submetidos a tratamento. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 4:119-123, 1962.
3. DIAS, E. — Chagas' disease: A comparative study of the susceptibility of four natural vectors to the experimental development of *Schizotrypanum cruzi*. 3th Int. Congr. Microb., N. Y (Abstracts of communications) p. 421-422, 1940.
4. DIAS, E. — Xenodiagnósticos seriados em cães infectados com amostras venezuelanas de *Schizotrypanum cruzi*. *Brasil Méd.* 54: 859-861, 1940.
5. DEANE, L. M. — Novo hospedeiro de tripanossomos do tipo *cruzi* e *rangeli* encontrado no Estado do Pará: o marsupial *Metachirops opossum opossum*. *Rev. brasil. Malariol. & Doenças trop.* 10:531-541, 1958.
6. 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.
7. DEANE, L. M. & DEANE, M. P. — Notas sôbre transmissores e reservatórios do *Trypanosoma cruzi* no nordeste do Estado do Ceará. *Rev. brasil. Malariol. & Doenças trop.* 9:577-595, 1957.
8. DEANE, L. M. & JANSEN, G. — Encontro de *Schizotrypanum cruzi* (Chagas, 1909) em marsupiais da espécie *Marmosa cinerea* Demarest. *Brasil Méd.* 53:265-266, 1939.
9. FREITAS, J. L. P. — Observações sôbre xenodiagnósticos em reservatórios domésticos e silvestres do *Trypanosoma cruzi* em uma localidade endêmica da Moléstia de Chagas, no Estado de São Paulo. *Hospital, Rio de Janeiro* 38:521-529, 1950.

---

CORRÊA, F. M. A. & BARRETTO, M. P. — Estudos sôbre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*; III. Infecção natural do marsupial *Marmosa agilis agilis* por tripanossomo semelhante ao *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 6:157-166, 1964.

---

10. GUIMARAES, F. N. & JANSEN, G. — Um foco potencial de tripanosomiase americana na Cidade do Rio de Janeiro (Distrito Federal). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 39:405-417, 1943.
11. LEAL, H.; FERREIRA Neto, J. A. & MARTINS, C. M. — Dados ecológicos sôbre os triatomídeos silvestres na Ilha de Santa Catarina (Brasil). *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 3:213-220, 1961.
12. PIZZI, T. — Immunologia de la enfermedad de Chagas. *Colección de monografías biológicas de la Unieversidad de Chile*, N° 7, 1957.
13. RODRIGUES, B. A. & MELLO, G. B. — Contribuição ao estudo da tripanosomiase americana. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 37:77-94, 1942.
14. SILVA, L. H. P. & NUSSENZWEIG, V. — Sôbre uma cêpa de *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para o camundongo branco. *Folia clin. & biol.* 20:191-208, 1953.
15. SIQUEIRA, A. F.; MAGALHÃES, A. E. A. & RÊGO, S. M. — Inquérito preliminar sôbre a moléstia de Chagas em uma fazenda do Município de Ribeirão Preto. *Rev. brasil. Malariol. & Doenças trop.* 9:271-276, 1957.
16. ZELEDÓN, R. & VIETO, P. L. — Susceptibilidad de varias especies de triatomíneos a una cepa costarricense de *Schizotrypanum cruzi* Chagas, 1909. *Rev. Biol. trop.* 5:195-199, 1957.

---

Recebido para publicação em 13 fevereiro 1964.