

ESTUDOS SÔBRE RESERVATÓRIOS E VECTORES SILVESTRES DO TRYPANOSOMA CRUZI. XXIV. VARIAÇÃO DOS DADOS BIOMÉTRICOS OBTIDOS EM AMOSTRAS DO T. CRUZI ISOLADAS DE CASOS HUMANOS DA DOENÇA DE CHAGAS (*)

Francisco Ferriolli Filho ** Mauro Pereira Barreto *** e José da Rocha Carvalheiro

Estudo biométrico de 10 amostras de Trypanosoma cruzi isoladas de casos humanos da doença de CHAGAS, nove mantidas em camundongos brancos jovens e uma mantida em ratos brancos jovens, mostrou a existência de grandes variações amostrais. Assim os valores do comprimento total médio das diferentes amostras variaram entre 16,3 μ e 21,8 μ , enquanto os valores do índice nuclear médio oscilaram entre 0,93 e 1,52.

Êstes resultados ampliam os limites de variações amostrais até agora observadas no T. cruzi, especialmente os que se referem ao índice nuclear médio.

INTRODUÇÃO

Embora os dados biométricos obtidos de tripanossomos semelhantes ao *T. cruzi*, isolados de animais, não sejam por si só suficientes para a identificação daqueles tripanossomos como o agente etiológico da doença de Chagas, tais dados têm sido usados como elementos indispensáveis para aquela identificação. Entre os dados biométricos de maior importância destaca-se, além do comprimento total médio do parasita, o índice nuclear médio.

O estudo biométrico do *T. cruzi* foi iniciado por Dias (7) e Dias & Freitas (8). Além do comprimento do corpo e do flagelo, aquêles autores calcularam o índice PN/NA, isto é, a relação entre a distância que vai da extremidade posterior ao meio do núcleo e a distância entre o meio do núcleo e a extremidade anterior, relação essa que define a posição do núcleo em

um dado flagelado. FLOCH & cols. (14) conceberam o índice nuclear médio que pode ser definido como sendo o índice que se obtém tomando a média das distâncias que vão da extremidade posterior ao meio do núcleo, medidas sobre diversos tripanossomos de uma dada amostra, e dividindo-a pela média das distâncias que vão do meio do núcleo à extremidade anterior, medidas sobre os mesmos tripanossomos:

$$\text{índice nuclear médio, IN} = \frac{\frac{\sum PN}{n}}{\frac{\sum NA}{n}} = \frac{\sum PN}{\sum NA}$$

Êstes autores dão grande importância ao referido índice, o mesmo fazendo Zeledón & Vieto (24) que concluem que a relativa constância do índice nuclear médio faz com que êle seja, por si só, capaz de permitir a distinção segura entre duas espé-

* Trabalho do Departamento de Parasitologia da Faculdade de Medicina e do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Ribeirão Preto, realizado em parte com auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

** Professor Assistente do Departamento de Parasitologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, SP.

*** Professor Catedrático do Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Farmácia e Odontologia, Ribeirão Preto, SP.

**** Instrutor do Departamento de Parasitologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, S.P.

cies próximas de tripanossomos: o *T. cruzi* e o *T. vespertilionis*.

Relativamente à obtenção de medidas sobre os tripanossomos fixados e corados, vários métodos têm sido usados pelos investigadores. Em todos eles as medidas são efetuadas sobre desenhos; para a obtenção dos desenhos dois recursos têm sido empregados: a câmara lúcida e a micro-projeção. Relativamente à obtenção das medidas sobre os desenhos feitos, os métodos diferem: em uns, como o adotado por Bruce & cols. (4), usa-se um compasso adequado; em outros, como o usado por Stephens & Fantham (21) emprega-se uma escala milimétrica; em outros, como o adotado por Hegner (15), usa-se um cartômetro ou "medidor de mapas"; em outros, enfim, como o empregado por Dias & Freitas (8) usa-se um curvímetero.

No curso de nossas investigações sobre eventuais reservatórios silvestres do *T. cruzi* temos notado variações, por vezes grandes dos dados biométricos, em particular o comprimento total e o índice nuclear médio, obtidos sobre amostras de tripanossomos isolados, não apenas de hospedeiros diferentes, mas também de exemplares diversos de uma determinada espécie de hospedeiro. Tal fato, já observado por Floch & Lajudie (13) em amostras isoladas de *Didelphis marsupialis*, foi amplamente confirmado por Barreto & cols. (1) que, trabalhando com amostras provenientes de *D. azarae* e *D. aurita*, observaram variações do comprimento total médio entre $17,62\mu$ e $19,21\mu$ e oscilações do índice nuclear médio entre 1,17 e 1,63. No caso da *L. crassicaudata* observaram Barreto & cols. (2) variações do comprimento total médio entre 17,02 e 21,46, e oscilações do índice nuclear médio entre $1,01 \pm$ e 1,44.

Considerando tôdas as amostras originárias de animais por nós até agora estudadas, observamos variações do comprimento total médio entre $14,94\mu$ (*Marmosa agilis*) e $21,80\mu$ (*Dasyprocta azarae*) e oscilações do índice nuclear médio entre 0,98 (*Akodon arviculoides cursor*) e 1,79 (*Marmosa agilis*), como se verifica nos trabalhos de Corrêa & Barretto (6), Ferriolli & Barretto (10, 11, 12), Barretto & Soto. (1, 2), Carvalho & Barreto (53), Soto & cols. (20) e Siqueira & cols. (19).

Hoare (in Lainson, 16), reunindo dados de literatura sobre tripanossomos semelhantes ao *T. cruzi* isolados de animais, mostra que o comprimento total médio varia entre $14,9\mu$ e $24,3\mu$ e que o índice nuclear médio oscila entre 1,0 e 1,9.

Surge, então, a pergunta: haverá entre amostras isoladas do homem variações equivalentes, isto é, as variações das amostras obtidas de animais cairão dentro dos limites de variações das amostras isoladas de casos humanos de doença de Chagas?

Com referência ao comprimento total, Wenyon (23) assinalava que ele oscila em torno de 20μ , sendo porém, os limites de variações pequenos. Dias (7) para uma amostra humana refere variações do comprimento entre $13,6\mu$ e $20,6\mu$ com média de $17,4\mu$, enquanto Zeledón & Vieto (24), estudando uma amostra isolada do *Triatoma dimidiata*, observam variação de comprimento entre $17,5\mu$ e 25μ com média de $21,5\mu$.

Em trabalho relativamente recente Brenner & Chiari (3) abordam o problema das variações amostrais e, em quatro amostras isoladas de casos humanos da doença de Chagas, verificaram que o comprimento total médio variou entre $17,3\mu$ e $22,6\mu$. Três outras amostras isoladas de triatomíneos domiciliados apresentaram comprimento total médio dentro dos limites acima apontados. Mais recentemente Hoare (in Lainson, 16), reunindo dados próprios e da literatura, mostra que os limites extremos de variação são $12,2\mu$ e $25,0\mu$, enquanto os comprimentos totais médios das diferentes amostras variam entre $17,4\mu$ e $21,7\mu$. Os dados obtidos por Lainson (16) em três amostras humanas caem dentro desses limites.

Relativamente ao índice nuclear médio, Dias (7) fixou-o em 1,6. Autores subsequentes, entre eles Flock & Ladjudie (13), Dias e Torrico (9), Streber (21), Zeledón & Vieto (24), trabalhando com amostras isoladas de casos humanos e de triatomíneos, obtêm índices variando entre 1,4 e 1,6. Mais recentemente Hoare (in Lainson, 16) reunindo dados próprios e da literatura, mostra que os índices variam entre 1,4 e 1,7. Por outro lado, Lainson (16), estudando três amostras humanas, obtêm índices de 1,80, 1,93 e 1,95.

Tendo tido a oportunidade de isolar di-

versas amostras de *T. cruzi* a partir de casos humanos de infecção, e de estudá-las detidamente sob o ponto de vista biométrico, resolvemos dar à publicidade os resultados obtidos.

MATERIAL E MÉTODOS

AMOSTRAS DE *T. CRUZI*. As amostras por nós estudadas foram assim conseguidas:

1. Amostra Y. — Isolada por Silva e Nussenzweig (18) através de xenodiagnóstico feito em caso agudo de doença de Chagas observado em Marília, SP; desde seu isolamento em camundongos, vem sendo mantida nesses animais mediante subinoculações de sangue.
2. Amostra Prêmio. — Isolada em camundongo, por inoculação de sangue, de um caso agudo de infecção chagásica procedente de Uberaba, MG, em 1962.
3. Amostra LAOS. — Isolada em 1963, através de xenodiagnóstico, de caso agudo procedente de Jussara; GO;
4. Amostra EMR. — Isolada em 1964, através de xenodiagnóstico de um caso agudo procedente de São Paulo de Faria, SP.
5. Amostra JS. — Isolada em 1964, mediante xenodiagnóstico de um caso agudo procedente de Santa Rita do Passa Quatro, SP;
6. Amostra EASY. — Isolada em 1964, mediante xenodiagnóstico de caso agudo procedente de Barrinha, SP;
7. Amostra HMS. — Isolada em 1964, mediante xenodiagnóstico de caso agudo procedente de Abadiânia, GO;
8. Amostra JBS. — Isolada em 1965, mediante xenodiagnóstico de caso agudo procedente de Três Fronteiras, SP;
9. Amostra AD. — Isolada em 1965, mediante xenodiagnóstico de caso agudo de infecção procedente de Inhumas, GO;
10. Amostra CC. — Isolada em 1965, mediante xenodiagnóstico de caso agudo procedente de Firminópolis, GO.

MANUTENÇÃO DE AMOSTRAS. — Todas as amostras, com uma única exceção, uma vez isoladas em camundongos, foram mantidas nesses animais através de repiques sucessivos feitos mediante inoculação, por via intraperitoneal, de 0,2 ml de

sangue citratado obtido por punção cardíaca de doadores infectados; a exceção é constituída pela amostra LAOS, que se mostrou patogênica para camundongos e foi mantida em ratos albinos, usando-se a mesma técnica para as subinoculações. Os repiques foram feitos com intervalos de duas ou três semanas, exceto no caso da amostra Y que, em virtude de sua grande virulência para camundongos, foi repicada com intervalos de uma semana.

BIOMETRIA. — Para a realização dos estudos biométricos, valemo-nos de esfregaços de sangue colhido de diferentes animais inoculados e em fases diversas da infecção; só excepcionalmente utilizamos esfregaços de sangue de um mesmo animal colhido em dias diversos.

De cada amostra estudamos quatro a seis preparações coradas pelos Giemsa, observando ao acaso 5 a 10 tripanossomos de cada preparação, até perfazer um mínimo de 30 flagelados.

Para a obtenção de desenhos valemo-nos de um microscópio projetor Leitz iluminado com lâmpada de mercúrio HBO-200. Os flagelados projetados sobre papel branco foram cuidadosamente desenhados com lápis de ponta fina, delineando-se o contorno dos parasitas, o núcleo, o cinetoplasto, a membrana ondulante e o flagelo livre; em cada caso uma escala milimétrica era projetada e desenhada. De cada parasito desenhado com aumento de 5.000-10.000 vezes, tomamos as medidas aconselhadas por Dias & Freitas (8), usando para isso, um curvímeter Rosenhain, cuja escala é 1:100.000. Todas as operações foram feitas sempre pela mesma pessoa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em cada tripanossomo desenhado tomamos as seguintes medidas: a distância PN, que vai da extremidade posterior ao meio do núcleo; a distância NA, que vai do meio do núcleo à extremidade anterior; o comprimento do flagelo livre; o comprimento total, representado pela soma das três medidas anteriores; a largura ao nível do núcleo e o diâmetro do cinetoplasto. Para cada um calculamos ainda o índice nuclear, IN, ou relação PN/NA.

No quadro I resumimos os resultados ob-

Quadro I. Variações das medidas de tripanossomos sanguícolas de camundongos experimentalmente infectados com amostras diversas isoladas de casos humanos da doença de Chagas.

Medidas	Amostra	Y	FMR	JS	EASY	JBS	PRÊMÍC	HMS	AD	CC	LAOS
		Distância PN	Min.	5,8	4,0	5,0	3,8	6,1	4,6	5,2	4,8
	Máx.	12,0	8,2	8,5	9,0	10,2	8,6	8,9	8,4	9,1	12,6
	Méd.	8,4	6,5	6,8	6,9	8,1	6,6	7,0	6,7	7,1	8,9
Distância NA	Min.	5,6	3,2	3,1	4,0	3,7	2,8	2,9	4,1	4,3	4,1
	Máx.	12,4	8,2	7,1	9,0	7,4	7,2	8,3	10,0	10,4	9,0
	Méd.	9,0	5,2	5,5	6,0	5,3	4,8	5,1	6,4	6,4	6,3
Comprimento do flagelo	Min.	2,2	2,6	4,2	2,0	3,7	3,8	2,2	2,4	2,6	3,2
	Máx.	5,5	6,4	8,5	8,0	9,9	8,0	6,7	7,7	7,0	10,9
	Méd.	3,9	4,3	5,9	4,9	6,3	5,5	4,5	5,1	5,0	6,5
Comprimento total	Min.	15,1	12,0	15,0	12,8	15,4	13,2	11,7	14,7	13,5	15,7
	Máx.	26,0	20,0	21,9	23,8	23,9	20,8	22,1	20,6	23,4	30,4
	Méd.	21,3	16,3	18,3	17,8	19,7	16,9	16,6	18,1	18,6	21,8
Largura	Min.	1,1	1,4	1,5	1,0	1,6	1,4	1,3	1,3	1,0	1,3
	Máx.	3,3	4,2	3,1	3,0	5,3	2,6	4,1	4,0	5,9	4,5
	Méd.	2,3	2,2	2,3	2,4	2,8	1,8	2,5	2,7	2,8	2,6
Diâmetro do cinetoplasto	Min.	0,5	0,8	0,8	0,4	0,5	0,6	0,7	0,7	0,8	0,8
	Máx.	1,3	2,0	1,2	1,0	1,4	1,6	1,7	1,3	1,3	1,4
	Méd.	1,1	1,2	0,9	0,7	1,0	1,2	1,1	1,0	0,9	1,0
Índice nuclear	Min.	0,71	0,68	0,83	0,63	0,94	0,74	0,84	0,77	0,65	0,89
	Máx.	1,46	2,38	1,87	1,83	2,36	2,86	2,27	1,83	1,98	2,13
	Méd.	0,93	1,24	1,22	1,14	1,52	1,37	1,39	1,06	1,11	1,39

tidos sobre as 10 amostras estudadas, apresentando os valores mínimo, máximo e médio das medidas tomadas.

Deixando de parte as demais medidas que oferecem menor interesse, analisemos o comprimento total e o índice nuclear.

No conjunto das amostras estudadas o comprimento total variou entre 11,7 μ , valor mínimo observado na amostra HMS, e 30,4 μ , valor máximo observado na amostra LAOS. Dentro de uma dada amostra o comprimento total variou entre limites bem amplos, sendo a maior amplitude de variação aquela observada na amostra LAOS. O comprimento total médio variou entre 16,3 μ , observado na amostra EMR, e 21,8 μ verificado na amostra LAOS.

As variações individuais do comprimento total por nós observadas ampliam, assim, a faixa estabelecida por Hoare (in Lainson, 16). Quanto às variações das médias amostrais, elas coincidem, em linhas gerais, com os verificados por Brenner & Chiari (3) e por Hoare (in Lainson, 16). Releva notar que a nossa média mínima, é um pouco inferior às anotadas pelos autores citados. Por outro lado a nossa média máxima é um pouco inferior à verificada por Brenner & Chiari (3) para a amostra Y, isto é, 22,6 μ . Vale acentuar que para esta mesma amostra obtivemos a média de 21,3 μ . Não temos elementos para saber se essa diferença é significativa. Todavia merece registro o fato de se observarem diferenças em uma dada amostra quando se usam métodos diversos na obtenção de desenhos (câmara clara ou microprojektor), quando se medem flagelados em fases diversas de infecção etc. Isto para não falar em erros do operador. Daí a necessidade de padronização das condições de trabalho, como assinalam muito bem Dias & Freitas (8).

Com o intuito de testar a homogeneidade das médias populacionais dos compri-

mentos totais do corpo dos tripanossomos procedemos a uma análise de variância (Quadro II).

O resultado obtido, ($F = 90,92$), significativo ao nível de 0,01, conduz-nos à rejeição da hipótese de homogeneidade do conjunto de médias populacionais.

Este fato é muito sugestivo em se tratando de amostras de procedência humana, o que não dá margem para dúvidas quanto à identidade dos tripanossomos estudados.

Tendo sido nossas amostras estudadas em condições sensivelmente homogêneas não se esperava obter resultado significativo. Tal fato nos leva a admitir que a metodologia empregada não tem o poder, que muitas vezes lhe é atribuído, de, por si só, bastar para caracterizar uma espécie de tripanossomo. Assim, os valores frequentemente citados na literatura para o comprimento total do *T. cruzi* não têm, a nosso ver, a generalidade que alguns lhes querem conferir.

O exame do quadro I revela que, no conjunto das amostras estudadas, o índice nuclear variou entre 0,65, valor mínimo obtido na amostra CC, e 2,38, valor máximo observado na amostra EMR. Dentro de uma determinada amostra o índice nuclear variou entre limites bem amplos, sendo a maior amplitude de variação observado na Amostra Prêmio. O índice nuclear médio oscilou entre 0,93, valor registrado para as amostras Y, e 1,52, obtido para a amostra JBS.

O valor do índice nuclear médio cai dentro dos limites de variação citados por Hoare (in Lainson, 16), isto é, 1,4 a 1,7, apenas no caso da amostra JBS; todos os outros exibem índices nucleares médios com valores inferiores ao limite mínimo acima citado. Por outro lado, o valor máximo por nós observado é muito inferior

Quadro II. Análise de variância do comprimento total de tripanossomos procedentes de diversas amostras isoladas de casos humanos da doença de Chagas.

Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	
Entre amostras	9	3232,15	359,13	$F = 90,92$
Dentro de amostras	352	1389,62	3,95	
TOTAL	361	4621,77		

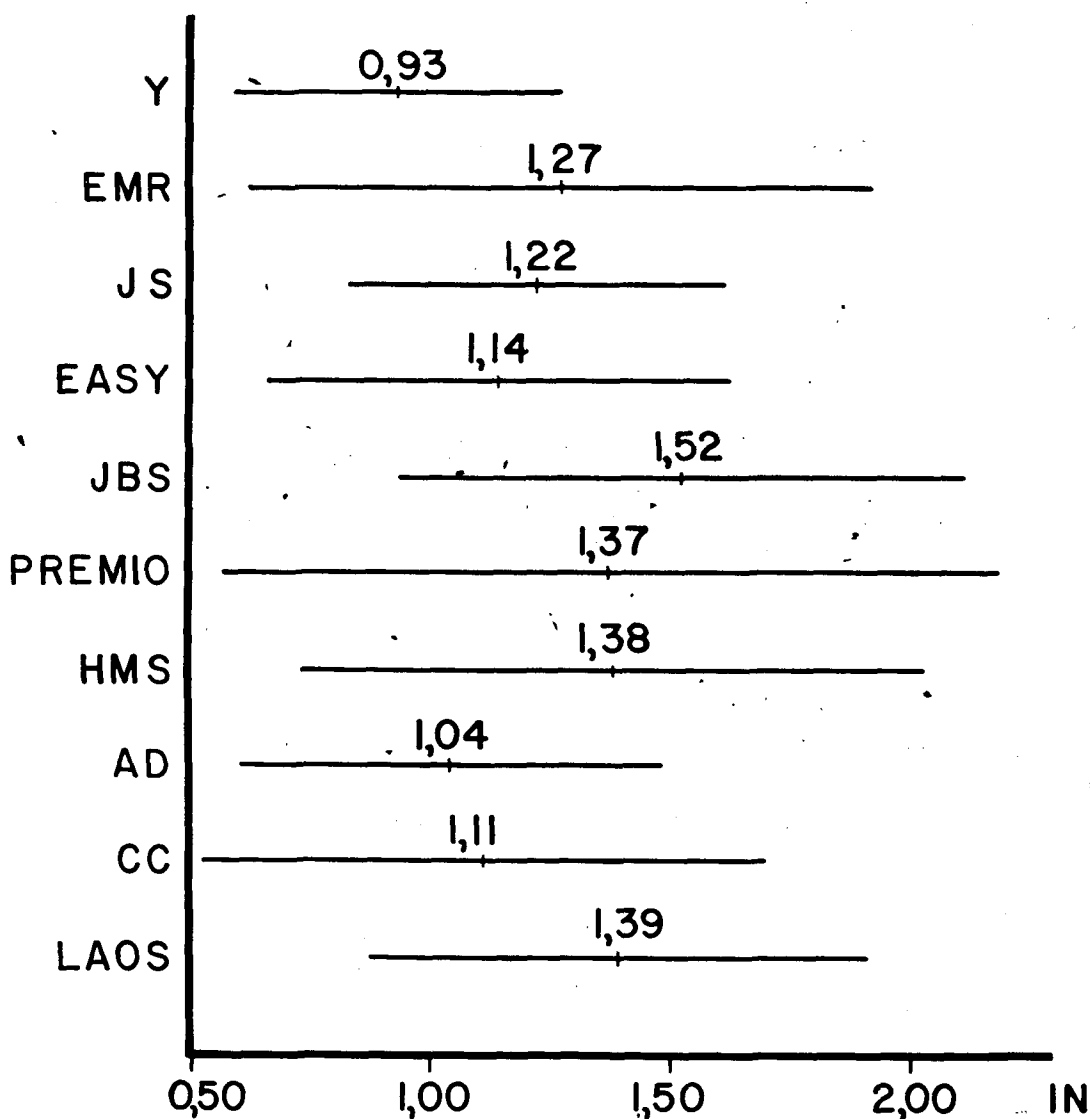


Gráfico I

ao dos índices verificados por Lainson (16).

Tanto o numerador (\overline{PN}) quanto o denominador (\overline{NA}) do índice nuclear médio podem ser considerados normalmente distribuídos. Já o mesmo não pode ser dito para a relação entre ambos (\overline{IN}). Acresce que, sendo constante em cada tripanosomo a soma PN mais NA (igual ao comprimento total do corpo), será obrigatório considerar a sua covariância ao se estabelecerem os intervalos de confiança para \overline{IN} . Utilizando um procedimento proposto por

Lima Filho & Campos (17) estabelecemos os intervalos de confiança (95%) dos índices nucleares médios das amostras estudadas (Quadro III e Gráfico 1).

Como no caso do comprimento total, também para o índice nuclear médio os limites freqüentemente citados na literatura não possuem a generalidade que se imagina.

No tocante aos índices nucleares médios, nossas amostras humanas, se assemelham às isoladas de mamíferos silvestres, em particular aquelas obtidas de gambás e cuicas por Barreto & cols. (1,2).

Nossos dados, por outro lado, não confirmam a hipótese de Zeledón & Vieto (24) segundo a qual haveria uma correlação entre o valor do índice nuclear e a virulência da amostra; a adaptação de uma amostra a dado hospedeiro seria acompanhada de uma diminuição de agressividade e da migração do núcleo para a parte posterior, resultando daí uma diminuição do índice

nuclear médio. Acontece, porém, que, das nossas amostras, a que é dotada de maior agressividade para camundongos é precisamente a amostra Y que apresenta o menor valor do índice nuclear. Em contraposição a amostra LAOS, que não infecta camundongos, apresenta índice nuclear com valor dos mais elevados entre os obtidos por nós.

Quadro III. Índices nucleares médios e seus intervalos de confiança (95%) de tripanossomos sanguícolas de camundongos experimentalmente infectados com amostras diversas isoladas de casos humanos da doença de Chagas.

AMOSTRA	— IN	LIMITES	
		Inferior	Superior
Y	0,93	0,59	1,27
EMR	1,27	0,62	1,92
JS	1,22	0,83	1,61
EASY	1,14	0,66	1,62
JBS	1,52	0,93	2,11
PRÊMIO	1,37	0,56	2,18
HMS	1,38	0,73	2,03
AD	1,04	0,60	1,48
CC	1,11	0,52	1,70
LAOS	1,39	0,87	1,91

S U M M A R Y

A biometric study of ten strains of *T. cruzi* isolated from human cases of Chagas' disease showed a great deal of strain variation. Thus the values of the mean total length of different strains varied from 16,3 μ , to 21,8 μ , while the values of the mean nuclear index varied from 0,93 to 1,52.

These results, specially those on the mean nuclear index, indicate that the limits of strain variations in *T. cruzi* are wider than those previously observed.

BIBLIOGRAFIA

1. BARRETTO, M.P., SIQUEIRA, A.F., CORRÊA, F.M.A., FERRIOLLI FILHO, F. & CARVALHEIRO, J.R. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. VII. Investigações sobre a infecção natural de gambás por tripanossomos semelhantes ao *T. cruzi*. Rev. Brasil. Biol., 24: 289-300, 1964.
2. BARRETTO, M.P., SIQUEIRA, A.F., FERRIOLLI FILHO, F. & CARVALHEIRO, J.R. — Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. X. Observações sobre a infecção natural e experimental da cuica, *Lutreolina crassicaudata crassicaudata* (Desm., 1904) por tripanossomos semelhantes ao *T. cruzi*. Rev. Brasil. Biol., 25: 237-248, 1965.
3. BRENNER, Z. & CHIARI, E. — Variação morfológicas observadas em diferentes amostras de *Trypanosoma cruzi*.

- Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 5: 220-224, 1963.
4. BRUCE, D., HAMERTON, A. E. & BATEMAN, H. R. — A trypanosome from Zanzibar. Proc. Roy. Soc. London, B, 81: 14-30, 1909.
 5. CARVALHEIRO, J. R. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XIII: Infecção natural do macaco, *Cebus apella versutus* Elliot, 1910, por tripanossomo semelhante ao *T. cruzi*. Rev. Brasil. Biol., 26: 101-114, 1966.
 6. CORRÊA, F. M. A. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vectores 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: 57-166, 1964.
 7. DIAS, E. — Sobre um *Schizotrypanum* dos morcêgos *Lonchoglossa ecaudata* e *Carollia perspicillata* do Brasil. Mem. Inst. O. Cruz, 35: 399-409, 1940.
 8. DIAS, E. & FREITAS, F. O. L. — Introdução ao estudo biométrico dos hemoflagelados do género *Schizotrypanum*. I. Introdução, material e técnica, problema e métodos estatísticos. Mem. Inst. O. Cruz, 38: 427-436, 1943.
 9. DIAS, E. & TORRICO, R. A. — Estudos preliminares sobre a doença de Chagas, na Bolívia. Mem. Inst. O. Cruz, 38: 165-173, 1943.
 10. FERRIOLLI FILHO, F. & BARRETTO, M. P. — 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*. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 7: 72-81, 1965.
 11. FERRIOLLI FILHO, F. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. IX. Infecção natural do *Rattus rattus* (Lin., 1758) por tripanossomo semelhante ao *T. cruzi*. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 7: 169-179, 1965.
 12. FERRIOLLI FILHO, F. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XIV. Infecção natural da preá, *Cavia aperea aperea* Erxleben, 1777 por tripanossomo semelhante ao *T. cruzi*. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 8: 267-276, 1966.
 13. FLOCH, H. & LAJUDIE, P. — Schizotrypanosomiase humaine et Schizotrypanosomes. Publ. Inst. Pasteur Goyane Terr. Inini, n.º 67, 6 p., 1942.
 14. FLOCH, H., LAJUDIE, P. & ABONNENC, E. — Schizotrypanosomes des chiropteres en Guyane Française. L'indice nucleaire moyen. Publ. Inst. Pasteur Guyane Ter. Inini, n.º 51, 7 p., 1943.
 15. HEGNER, R. W. — Measurements of *Trypanosoma d'emyctyli* from different hosts and their relation to specific identification, heredity and environment. J. Parasitol., 7: 105-113, 1921.
 16. LAINSON, R. — Parasitological studies in British Honduras. I. A parasite resembling *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* in the coati, *Nasua narica* (Carnivora, Procyonidae), and a note on *Trypanosoma ligeri* from the anteater, *Tamandua tetradactyla* (Edentata). Ann. Trop. Med. Parasitol., 59: 37-42, 1965.
 17. LIMA FILHO, E. C. & CAMPOS, A. D. — Comunicação pessoal.
 18. SILVA, L. H. P. & NUSSENZWEIG, V. — Sobre uma cepa de *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para o camundongo branco. Folia Clin. Biol., 20: 191-208, 1953.
 19. SIQUEIRA, A. F., FERRIOLLI FILHO, F. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vectores silvestres de *Trypanosoma cruzi*. XV. Infecção natural do ouriço, *Coendou insidiosus insidiosus* (Kuhl, 1820) por tripanossomo semelhante ao *T. cruzi*. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 9: 155-162, 1967.
 20. SOTO-URRIBARRI, R., SOTO, S. T. & BARRETTO, M. P. — Estudos sobre reservatórios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XV. Infecção natural da cutia, *Dasyprocata azarae azarae* Licht, 1823 por tripanossomo semelhante ao *T. cruzi*. Rev. Brasil. Biol., 26: 133-144, 1966.
 21. STEPHENS, J. W. W. & FANTHAM, H. B. — The measurement of *Trypanosoma rhodesiense*. Proc. Roy. Soc. London, B: 85: 223-234, 1912.
 22. STREBER, F. — Aislamiento y estudio de una cepa de *Schizotrypanum cruzi* Chagas, 1909. Rev. Palud. Mep. Trop., 2: 151-184, 1950.
 23. WENYON, C. M. — Protozoology. New York: William Wood & Co, vol. , p. 488, 1926.
 24. ZELEDÓN, R. & VIETO, P. L. — Comparative study of *Schizotrypanum cruzi* Chagas, 1909 and *S. vespertilionis* (Battaglia, 1904) from Costa Rica. J. Parasitol., 44: 499-502, 1958.