

## AVALIAÇÃO PARASITOLÓGICA E SOROLÓGICA DE CAPRINOS INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE PELO *TRYPANOSOMA CRUZI*.

Alexandre J. FERNANDES (1), Ricardo W. A. VITOR (2) & João Carlos P. DIAS (1)

### RESUMO

A infecção experimental pelo *Trypanosoma cruzi* foi estudada em nove caprinos jovens. Os animais foram inoculados via intraperitoneal com  $10^3$  tripomastigotas sangüíneos/Kg de peso com as cepas 147 (Grupo 1) e 229 (Grupo 2), isoladas de pacientes chagásicos crônicos de Bambuí, MG. Realizaram-se exames de sangue a fresco, xenodiagnóstico, hemocultura e sorologia (RIFI e ELISA). O período de acompanhamento da infecção variou de 7 a 30 meses. Pôde-se observar uma acentuada diferença no curso da infecção entre os dois grupos. Demonstrou-se pela primeira vez em caprinos experimentalmente inoculados com *T. cruzi*, o parasita através de exames de sangue a fresco e xenodiagnóstico no período agudo e pela hemocultura e xenodiagnóstico no período crônico da infecção chagásica. Os resultados sugerem que caprinos, em determinadas condições epidemiológicas, podem ser importantes no ciclo de transmissão silvestre e peridoméstico do *T. cruzi*, especialmente aqueles animais mais jovens.

**UNITERMOS:** *Trypanosoma cruzi*; Caprinos; Reservatório; Epidemiologia da doença de Chagas.

### INTRODUÇÃO

Entre os reservatórios sinantrópicos do *Trypanosoma cruzi*, os caprinos têm sido avaliados em várias regiões do Chile <sup>1,3,14</sup> e no nordeste do Brasil <sup>11</sup>.

A caprinocultura se restringe principalmente às zonas rurais latinoamericanas, sendo desenvolvida por populações de nível socioeconômico baixo e por vezes se sobrepondo a áreas de transmissão da doença de Chagas <sup>11</sup>.

No Brasil, a primeira evidência da infecção natural caprina pelo *T. cruzi* foi observada em São Sebastião do Umbuzeiro, Paraíba. Entre 79 animais estudados 43 (54,4%) apresentaram Reação de Hemaglutinação Indireta (RHI) reativa para *T. cruzi* <sup>23</sup>.

Posteriormente, na mesma localidade, entre soros de 748 cabras testados 195 (26,1%) foram reagentes para *T. cruzi* através da RHI, não sendo indicado a demonstração do parasita neste trabalho <sup>11</sup>.

A demonstração do *T. cruzi* em caprinos naturalmente <sup>24</sup> e experimentalmente <sup>11</sup> infectados através de exames parasitológicos tem sido apenas ocasional e excepcionalmente apresenta resultados positivos. No presente trabalho, buscou-se estudar a infecção experimental aguda e crônica pelo *T. cruzi* em caprinos jovens através de exames parasitológicos e sorológicos, na tentativa de um melhor conhecimento do curso da infecção nestes animais, como base para avaliação do seu potencial na cadeia da doença de Chagas humana.

(1) Posto Avançado de Estudos "Emmanuel Dias"/Laboratório de Biologia de Triatomíneos e Epidemiologia da doença de Chagas, Centro de Pesquisas "René Rachou" - FIOCRUZ. CP 1743. 30190-002, Belo Horizonte, MG, Brasil.

(2) Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Animais

Foram utilizados nove caprinos sem raça definida, procedentes do município de Bambuí (MG), com idade entre 8 e 78 dias, filhos de cabras com três xenodiagnósticos negativos e três Reações de Imunofluorescência Indireta não reagentes para *T. cruzi*.

### Exames pré-infecção

Os animais antes da inoculação com o *T. cruzi*, foram submetidos ao xenodiagnóstico com 20 ninfas de 3º estágio, sendo 10 de *Triatoma infestans* e 10 de *Panstrongylus megistus*. Os insetos foram examinados por dissecação aos 30 dias após o repasto. Paralelamente, foram coletadas amostras de soro para Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e Reação Imunoenzimática (ELISA). Todos os animais foram pesados e avaliada a temperatura retal.

### Inóculo e cepas de *T. cruzi*

Os animais foram inoculados via intraperitoneal com  $10^3$  tripomastigotas sanguíneos/Kg de peso com as cepas 147 ou 229. Ambas foram isoladas de pacientes chagásicos crônicos procedentes do município de Bambuí, Minas Gerais, pertencentes, respectivamente, aos Zimodemas B e A<sup>28</sup>.

### Infecção

Os animais foram subdivididos em dois grupos:

**Grupo I:** cinco animais com idade entre 8 e 78 dias, pesando em média 5.300g, foram inoculados com a cepa 147 de *T. cruzi*;

**Grupo II:** quatro animais com idade entre 11 e 15 dias, pesando em média 7Kg, foram inoculados com a cepa 229 de *T. cruzi*.

### Exames pós-infecção

**Exame a fresco:** De cada animal examinava-se diariamente, a partir do 4º dia de infecção, por um período mínimo de 45 dias, amostras de sangue entre lâmina e laminula para avaliação da parasitemia<sup>4</sup>.

**Xenodiagnóstico:** A metodologia foi a mesma utilizada antes da infecção, sendo os dois primeiros exames aplicados quinzenalmente e os demais mensalmente, até o final da avaliação.

**Hemocultura:** Foram coletados 20ml de sangue heparinizado de cada animal e cultivado em meio LIT<sup>12</sup>, com leituras aos 30, 60 e 90 dias após a coleta.

**Sorologia:** As duas primeiras amostras de soros foram coletadas quinzenalmente e as demais mensal-

mente até o final da avaliação. Na RIFI<sup>9</sup> foi utilizado como conjugado antigamaglobulina total de cabra, obtida em coelho e marcada com isotiocianato de fluoresceína. Os soros foram diluídos a partir de 1:10 com fator de diluição igual a 2 até 1:1280. A ELISA<sup>31</sup> foi realizada utilizando antígeno total extraído da cepa Y de *T. cruzi* por tratamento com NaOH 0,15M<sup>30</sup> e soros diluídos a 1:40. Esta diluição foi a que melhor discriminou soros de dois animais infectados e não infectados avaliados previamente pela ELISA nas diluições de 1:10 até 1:1280. O conjugado utilizado foi uma anti-IgG caprina marcada com peroxidase (SIGMA) e a leitura em absorbância a 492 nm em leitor de microplacas (BIO RAD). O gráfico mostrando a evolução dos níveis de anticorpos anti-*T. cruzi* foi elaborado utilizando as médias simples das leituras em absorbância (ELISA) e as médias geométricas da recíproca dos títulos (MGRT) obtidas pela RIFI<sup>25</sup>.

**Temperatura:** Foi observada via retal, diariamente, a partir do 4º dia de infecção até o 30º dia, passando a ser semanal após este período. A temperatura era medida paralelamente ao exame a fresco.

## RESULTADOS

**GRUPO I:** Animais inoculados com a cepa 147 de *T. cruzi*:

**Exame a fresco:** Todos os animais apresentaram exame de sangue a fresco positivo, com período pré-patente e de patência médios de 10 e 4 dias, respectivamente. A figura 1 representa a curva da parasitemia média dos cinco animais estudados. Um dos animais morreu no 27º dia de infecção, apresen-

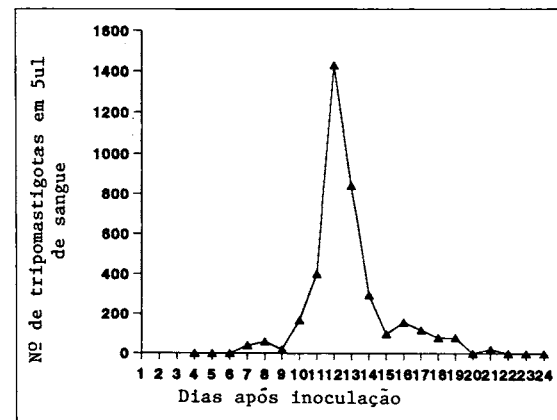


Fig. 1 - Curva de parasitemia média de caprinos inoculados com tripomastigotas sanguíneos da cepa 147 (Grupo I) de *Trypanosoma cruzi*.

tando elevada parasitemia com pico no 12º dia e atingindo aproximadamente 7150 tripomastigotas/5µl de sangue.

**Xenodiagnóstico:** Todos os animais apresentaram xenodiagnósticos negativos antes da inoculação. Em dois animais foram aplicados 12 xenodiagnósticos num período de 9 meses, com resultados negativos. No animal que foi inoculado com 19 dias de nascido foram realizados sete exames num período de quatro meses. Destes, dois foram positivos para *T. cruzi* no 15º e 30º dia de infecção. No animal inoculado no 8º dia de nascido foram realizados 39 xenodiagnósticos num período de 30 meses, sendo três positivos no 15º, 30º e 45º dia de infecção.

**Hemocultura:** Não foi realizada.

**Sorologia:** Antes da inoculação, os animais apresentaram soros com títulos inferiores a 1:20 pela RIFI e leitura média de 0,087 pela ELISA. Após a inoculação, foram observados níveis crescentes de anticorpos anti-*T. cruzi* pelos dois testes à partir da segunda semana. A média geométrica da recíproca dos títulos (MGRT) de anticorpos detectados pela RIFI oscilou entre 1:56 e 1:320 a partir da quarta semana até o final do acompanhamento. A ELISA apresentou, após a inoculação, leituras médias oscilando entre 0,213 e 0,530 (Figura 2).

**Temperatura:** A temperatura média antes da inoculação foi de 39,8°C. Não houve alteração após a infecção.

**GRUPO II:** Animais inoculados com a cepa 229 de *T. cruzi*:

**Exame a fresco:** Todos os animais tiveram exames de sangue a fresco negativos.

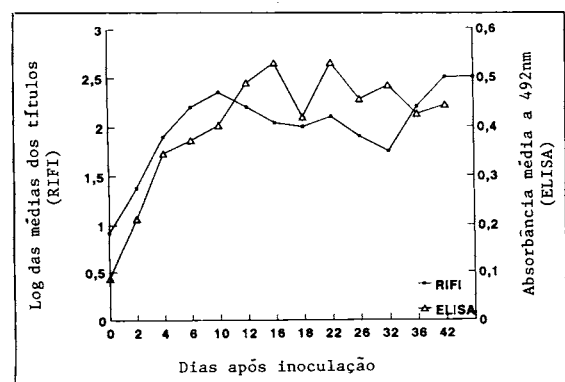


Fig. 2 - Pesquisa de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* no soro de caprinos inoculados com a cepa 147 (Grupo I) pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e Reação Imunoenzimática (ELISA).

**Xenodiagnósticos:** Todos apresentaram exames negativos antes da inoculação. Em cada animal foram aplicados 13 xenodiagnósticos num período de 12 meses de avaliação. Dois apresentaram resultado positivo apenas no 15º dia de infecção, um teve todos os exames negativos e o outro apresentou xenodiagnóstico positivo sete meses após inoculação.

**Hemocultura:** A hemocultura foi realizada no 50º dia e aos seis e 12 meses após inoculação. Apenas um animal teve a hemocultura positiva no 50º dia, coincidentemente o mesmo que apresentou xenodiagnóstico positivo aos 7 meses de infecção.

**Sorologia:** A RIFI somente detectou níveis significativos de anticorpos anti-*T. cruzi* nos soros dos caprinos do Grupo 2 a partir da sexta semana após a infecção. Entre a sexta e quadragésima semana, a MGRT oscilou entre 1:24 e 1:80, sempre apresentando títulos relativamente baixos. A leitura média em absorbância pela ELISA antes do inóculo foi de 0,122 elevando-se depois para 0,190 e oscilando entre 0,180 a 0,403 até a vigésima sexta semana, período máximo de avaliação por este teste (Figura 3).

**Temperatura:** Não houve alteração, sendo a média de 40°C.

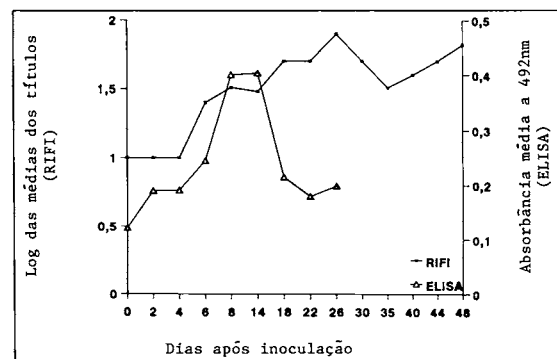


Fig. 3 - Pesquisa de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* no soro de caprinos inoculados com a cepa 229 (Grupo 2) pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e Reação Imunoenzimática (ELISA).

## DISCUSSÃO

Os caprinos, entre os reservatórios sinantrópicos do *T. cruzi*, têm sido assinalados como importantes fontes de alimentação para triatomíneos peridomiciliados e silvestres<sup>11,20</sup> e como participantes do ciclo de transmissão do parasita<sup>14</sup>.

A infecção natural de caprinos pelo *T. cruzi* foi descrita no Chile através do xenodiagnóstico aplicado em 232 animais, sendo encontrado apenas 1 (0,5%) positivo<sup>24</sup>. De acordo com dados obtidos na literatura, esta é a única comprovação parasitológica da infecção natural caprina pelo *T. cruzi*, uma vez que os outros estudos foram realizados através da Reação de Hemaglutinação Indireta (RHI)<sup>13,14</sup> e Reação de Imunofluorescência Indireta<sup>11,23</sup>. Mais recentemente, no município de São Raimundo Nonato, Piauí, anticorpos anti-*T. cruzi* foram pesquisados através da RIFI, RIII e ELISA em 147 cabras, com 25,2% de positividade. Nestes animais aplicou-se o xenodiagnóstico obtendo-se resultados negativos<sup>17</sup>.

Com relação a infecção experimental destes animais os dados da literatura são extremamente escassos. BRUMPT<sup>7</sup> infectou dois animais, não detectando parasitas através de exame de sangue a fresco. Posteriormente, o parasita foi demonstrado via hemocultura no 3º e 38º dia, e em esfregaços sanguíneos corados no 12º e 17º dia após a infecção em duas cabras com um dia de nascidas. Os animais foram observados por um período médio de 96 dias<sup>15</sup>. Mais recentemente, a infecção com as cepas Colombiana, Paraibana e FL de *T. cruzi* foi estudada em cinco caprinos com seis meses de idade. Os animais foram avaliados através do exame a fresco, hemocultura e RIFI. O parasita só foi demonstrado através de hemocultura realizada no 7º dia de infecção em um animal inoculado via endovenosa e intraperitoneal com 10.500.000 parasitos sanguíneos da cepa FL<sup>11</sup>.

No presente trabalho demonstrou-se, pela primeira vez, em caprinos experimentalmente inoculados com *T. cruzi*, o parasita através de exames a fresco e xenodiagnóstico no período agudo, e pela hemocultura e xenodiagnóstico no período crônico da infecção chagásica. Pôde-se observar, através de exames parasitológicos e sorológicos, uma acentuada diferença no curso da infecção entre os dois grupos de caprinos estudados, inoculados com duas cepas distintas de *T. cruzi* de origem humana.

A febre como sinal clínico da infecção não ocorreu em nenhum grupo de animais, permanecendo inalterada a temperatura retal mesmo naqueles que apresentaram parasitemia patente. Os valores, por nós encontrados, se assemelham aos observados em caprinos normais confinados (38,2 - 39,2°C) e semi-confinados (38,8 - 40°C)<sup>22</sup>.

Todos os animais do Grupo I, inoculados com a cepa 147 de *T. cruzi*, apresentaram exame a fresco positivo ao passo que aqueles inoculados com a cepa 229 (Grupo II) apresentaram parasitemia subpatente, apesar de serem todos muito jovens com idade entre 11 a 15 dias. Deve-se ressaltar que o inóculo utilizado foi baixo (10<sup>3</sup> tripomastigotas sanguíneos/Kg de peso), demonstrando a susceptibilidade de caprinos jovens a infecção pelo *T. cruzi*. O diferente comportamento parasitológico apresentado pelas cepas 147 e 229 em caprinos concorda com o observado em camundongos C3H, utilizando as mesmas cepas<sup>10</sup>. Neste trabalho os autores estudaram cepas de *T. cruzi* pertencentes a diferentes zimodemas (Z) e esquizodemas (KDNA), e sugerem uma correlação entre Z e aspectos biológicos do parasita. A cepa 229 pertencente ao ZA<sup>28</sup> apresentou parasitemia subpatente e baixa virulência para camundongos; o mesmo comportamento se observou quando inoculada em caprinos (Grupo II). A cepa 147, com perfil de ZB<sup>28</sup>, determinou parasitemia patente, alta virulência e letalidade para camundongos. Este comportamento foi semelhante nos caprinos deste trabalho, inclusive causando a morte de um animal no período agudo da infecção. Numerosos trabalhos apontam diferenças comportamentais de cepas de *T. cruzi* em infecções experimentais, entre estas, com as cepas Y e CL em camundongos<sup>6</sup> e cães<sup>26</sup>; cepas Ernestina e Albuquerque em coelhos<sup>29</sup> e cepas Be-62 e Be-78 em cães<sup>18</sup>. Nossos resultados concordam com dados experimentais anteriores<sup>15</sup>, onde observou-se parasitas no sangue periférico de cabras jovens até o 17º dia de infecção. BRENER<sup>5</sup>, entre outras cepas de *T. cruzi*, estudou o comportamento da cepa FL que apresenta 92% de formas sanguíneas largas, em camundongos normais e imunes, verificando que, através da inoculação direta de tripanossomas na corrente sanguínea de camundongos normais, uma alta percentagem de formas largas permaneceu na circulação de quatro a cinco dias, sem efetuarem o ciclo tecidual. Desta forma, com relação aos resultados de CASTILLO<sup>11</sup>, julgamos que, provavelmente, os parasitas da cepa FL de *T. cruzi*, detectados via hemocultura no 7º dia após infecção, foram formas ainda procedentes do inóculo.

No conjunto, os presentes dados indicam a importância potencial de caprinos na transmissão do *T. cruzi* a triatomíneos, especialmente no período agudo da infecção. Apenas em um animal, inoculado com a cepa 229, não foi possível demonstrar o parasita, sendo a infecção evidenciada através de anticorpos anti-*T. cruzi* detectados pela RIFI e ELISA. Na literatura não existem

dados referentes ao acompanhamento de caprinos no período crônico da infecção pelo *T. cruzi* através do xenodiagnóstico. O período máximo anteriormente avaliado foi de cinco meses através de esfregaços sanguíneos<sup>15</sup> e três meses via exame de sangue a fresco, hemocultura e RIFI<sup>11</sup>.

Tudo indica que a partir da fase aguda ocorre nos caprinos uma redução significativa da parasitemia, especialmente depois dos 2 meses de infecção, quando escasseiam sobremaneira os xenodiagnósticos e hemoculturas positivas, embora permaneçam altos os níveis de anticorpos anti-*T. cruzi*. Num total de 95 xenodiagnósticos aplicados sobre 9 caprinos, entre 2 e 30 meses de infecção chagásica, somente 1 animal (11,1%) e 1 xenodiagnóstico (1,05%) foi positivo aos 7 meses. Uma hemocultura apenas foi positiva aos 50 dias de infecção, em um único animal, ressaltando-se que o volume de sangue coletado por hemocultura, de 20ml, é bastante satisfatório, desde que para humanos adultos se recomendam 30ml<sup>12</sup>.

Pôde-se observar que as duas reações sorológicas apresentaram boa sensibilidade na detecção de anticorpos anti-*T. cruzi* na infecção experimental de caprinos, sendo a ELISA, independente da cepa utilizada, capaz de fazê-lo mais precocemente. Resultados semelhantes foram observados em cães<sup>19</sup> inoculados com as cepas Be-68 ou Be-78 de *T. cruzi*, onde a reatividade dos soros para anticorpos IgM e IgG na ELISA antecedeu de duas semanas à RIFI. O estudo da infecção experimental em camundongos com cinco cepas de *T. cruzi*, demonstrou diferenças entre cepas do parasita e sua habilidade para induzir anticorpos específicos, sugerindo ser esta habilidade própria da cepa<sup>27</sup>. Posteriormente, observou-se que a intensidade, início e evolução da resposta imunológica em camundongos diferiu de acordo com a cepa de *T. cruzi* utilizada<sup>2</sup>.

A maioria dos estudos da infecção natural pelo *T. cruzi* em caprinos têm se limitado a levantamentos soroepidemiológicos<sup>8, 11, 14, 16</sup> sem no entanto, avaliar o potencial que estes animais têm para infectar triatomíneos. Este dado seria de grande relevância, uma vez que a prevalência de infecção natural pelo *T. cruzi* em caprinos no Chile chega a 9,4%<sup>14</sup> e de 26,1% na Paraíba, Brasil<sup>11</sup>. Este último autor, estudando a fonte alimentar de 107 *Triatoma brasiliensis* capturados em abrigos de cabras, observou que 48 (44,9%) triatomíneos haviam se alimentado nestes animais e 26 (24,3%) foram positivos para *T. cruzi*. Posteriormente,

observou-se que em Catolé do Rocha, Paraíba, os caprinos constituíram fonte alimentar ao *T. brasiliensis* em nível superiores a gatos e cães no peridomicílio<sup>21</sup>. Estes resultados, somados à capacidade destes animais infectarem triatomíneos no período agudo e eventualmente crônico da infecção, como por nós demonstrado, sugerem que, em determinadas condições epidemiológicas os caprinos podem ser importantes no ciclo de transmissão silvestre e peridoméstico do *T. cruzi*, especialmente aqueles animais mais jovens. Outro aspecto a ser considerado, é a possibilidade de infecção ao se manipular a carne destes animais, ou mesmo infecção por via oral ao ingerir carne mal cozida. Mas, provavelmente, acontecendo em circunstâncias absolutamente excepcionais.

## SUMMARY

### Serological and parasitological evaluation of goats, experimentally inoculated with *Trypanosoma cruzi*.

The experimental infection by *Trypanosoma cruzi* was studied in nine young goats. These animals were inoculated by intraperitoneal route with 10<sup>3</sup> trypomastigotes/Kg body weight with strains 147 (Group 1) and 229 (Group 2), isolated from chronic Chagasic patients proceeding from Bambuí, Minas Gerais, Brazil.

The infected animals were submitted to fresh blood examinations, xenodiagnosis, hemoculture and serology (IFAT and ELISA). The follow up of *T. cruzi* infection ranged from 7 to 30 months and it was possible to note a markable difference concerning the course of infection between the two groups.

The parasite was visualized, for the first time in experimentally infected goats in the acute period through fresh blood examinations and xenodiagnosis and through hemoculture and xenodiagnosis during the chronic period of the Chagasic infection.

These results suggest that, under some epidemiological conditions, goats may be important in the sylvatic and peridomiciliar transmission cycles of *T. cruzi* specially young animals.

## AGRADECIMENTOS

A Urias A. Lamounier, Paulo A. Lamounier e Silvia A. S. Alves funcionários do Posto Avançado de Estudos

"Emmanuel Dias" - FIOCRUZ, Bambuí, MG e Rosalida S. N. Lopes da Universidade Federal de Minas Gerais pela eficiente colaboração e apoio técnico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALCAINO, H. A.; ARRAU, S. A.; APT, W. & RIOS, A. - Enfermedad de Chagas en caprinos sinantrópicos de la provincia del Limarí, Chile. Rev. med. Chile, 110: 328-332, 1987.
2. ANDRADE, S. G.; ANDRADE, V.; BRODSKY, C.; MAGALHÃES, J. B. & BARRAL NETO, M. - Immunological response of swiss mice to infection with three different strains of *Trypanosoma cruzi*. Ann. trop. Med. Parasit., 79: 397-407, 1985.
3. BERTOGLIA, J.; RODRIGUES, J.; GORDILHO, N. et al. - Epidemiología de la enfermedad de Chagas en Chile. Sectores rurales. Infección de mamíferos por *Trypanosoma cruzi* y nuevas contribuciones al conocimiento de la infestación triatomídea domiciliaria en III Región Chile (1982-1983). Bol. chil. Parasit., 39: 20-23, 1984.
4. BRENER, Z. - Therapeutic activity and criterion of cure on mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 4: 389-395, 1962.
5. BRENER, Z. - The behaviour of slender and stout forms of *Trypanosoma cruzi* in the blood-stream of normal and immune mice. Ann. trop. Med. Parasit., 63: 215-220, 1969.
6. BRENER, Z. - Intraspecific variations in *Trypanosoma cruzi*: two types of parasite populations presenting distinct characteristics. Bull. Pan Amer. Hlth. Org., 347: 11-21, 1977.
7. BRUMPT, E. - Précis de parasitologie. 2. ed. Paris, Masson, 1913. p. 186.
8. BURCHARD, L.; CORNEJO, J.; CRUZ, L. et al. - Epidemiología de la enfermedad de Chagas en Chile. Sectores rurales. Infestación triatomídea domiciliaria e infestación por *Trypanosoma cruzi* del vector y los mamíferos domésticos de la II Región (1983). Bol. chil. Parasit., 39: 17-19, 1984.
9. CAMARGO, M. E. - Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of American trypanosomiasis. Technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 8: 227-234, 1966.
10. CARNEIRO, M.; ROMANHA, A. J. & CHIARI, E. - Biological characterization of *Trypanosoma cruzi* strains from different zymodemes and schizodemes. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 86: 387-393, 1991.
11. CASTILLO, A. R. F. - Estudio epidemiológico de la infección humana y caprina por *Trypanosoma cruzi* en la área rural del municipio de São Sebastião do Umbuzeiro, Paraíba. Rio de Janeiro, 1988. (Dissertação de Mestrado - Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública).
12. CHIARI, E. & DIAS, J. C. P. - Nota sobre uma nova técnica de hemocultura para o diagnóstico parasitológico na doença de Chagas na sua fase crônica. Rev. Soc. bras. Med. trop., 9:133-136, 1975.
13. CORREA, V.; BRICENO, J.; ZUNIGA, J. et al. - Infección por *Trypanosoma cruzi* en animales domésticos de sectores rurales de la IV Región, Chile. Bol. chil. Parasit., 37: 27-28, 1982.
14. CORREA, V.; ZUNIGA, J.; BRIGENO, J. et al. - Epidemiología de la enfermedad de Chagas en Chile. Sectores rurales. Infestación domiciliaria por triatomíneos, tasa de infección de estos por *Trypanosoma cruzi* y nuevos aportes al conocimiento de la infección chagásica en mamíferos domésticos de la IV Región (1982-1983). Bol. chil. Parasit., 39: 24-27, 1984.
15. DIAMOND, L. S. & RUBIN, R. - Experimental infection of certain farm mammals with a North American strain of *Trypanosoma cruzi* from the raccon. Exp. Parasit., 7: 383-390, 1958.
16. FLORES, B.; IERNANDEZ, G.; LEPE, A. et al. - Epidemiología de la Enfermedad de Chagas en Chile. Sectores rurales. Infestación triatomídea domiciliaria e infección por *Trypanosoma cruzi* del vector y de mamíferos domésticos de la IV Región, 1983. Bol. chil. Parasit., 39: 62-65, 1984.
17. GOMES, M. A. T. - Potencial de transmissão de tripanossomíase americana nas localidades do Sítio do Mocó e Borda, Município de São Raimundo Nonato, Sudeste do Piauí. Rio de Janeiro, 1993. (Dissertação de Mestrado - Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública).
18. LANA, M. - O cão como modelo experimental para o estudo da doença de Chagas. Belo Horizonte, 1992. (Tese de Doutorado - Universidade Federal de Minas Gerais).
19. LANA, M.; VIEIRA, L. M.; MACHADO-COELHO, G. L. L. et al. - Humoral immune response in dogs experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 86: 471-473, 1991.
20. LUCENA, D. T. - Estudos sobre a Doença de Chagas no Nordeste do Brasil. Rev. bras. Malar., 22: 3-173, 1970.
21. MARCONDES, C. B.; DIAS, J. C. P.; GUEDES, L. A. et al. - Estudo epidemiológico de fontes de alimentação sanguínea dos triatomíneos da Fazenda Aroeira (Catolé do Rocha, Paraíba) e circunvizinhanças. Rev. Soc. bras. Med. trop., 24: 137-140, 1991.
22. MARQUES JÚNIOR, A. P. - Funções vitais e infecções helmínticas de caprinos em regimes de confinamento e semi-confinamento. Belo Horizonte, 1980. (Dissertação de Mestrado-Universidade Federal de Minas Gerais).
23. MARZOCCHI, M. C. A.; FUENTES, A. R.; MENESES, A. P. et al. - Primeira evidência da infecção natural caprina pelo *Trypanosoma cruzi* associado ao *Triatoma brasiliensis* no Brasil. Rev. Soc. bras. Med. trop., 20(Supl.): 89-90, 1987.
24. NEGILME, R. & SCHENONE, H. - Resume de veinte anos de investigación sobre la enfermedad de Chagas en Chile. Rev. med. Chile, 88: 82-93, 1960.
25. PAUL, J. R. & WHITE, C. - Serological epidemiology. New York, Academic Press, 1973.
26. PEDREIRA DE CASTRO, M. A. & BRENER, Z. - Estudo parasitológico e anátomo-patológico da fase aguda da doença de Chagas em cães inoculados com duas diferentes cepas do *Trypanosoma cruzi*. Rev. Soc. bras. Med. trop., 18: 223-229, 1985.
27. PERALTA, J. M. - *Trypanosoma cruzi* antibodies in mice infected with different strains of *T. cruzi*. J. Parasit., 66: 342-344, 1980.

28. ROMANHA, A. J. - Heterogeneidade isoenzimática em *Trypanosoma cruzi*. Belo Horizonte, 1982. (Tese de Doutorado - Universidade Federal de Minas Gerais).
29. TEIXEIRA, A. R. L.; FIGUEIREDO, F.; REZENDE FILHO, R. & MACÊDO, V. - Chagas' disease: a clinical, parasitological, immunological, and pathological study in rabbits. **Amer. J. trop. Med. Hyg.**, 32: 258-272, 1983.
30. VITOR, R. W. A. & CHIARI, E. - Avaliação de antígenos do *Trypanosoma cruzi* para a Reação de Hemaglutinação Indireta. I. Diferentes extratos antigênicos. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, 29: 178-182, 1987.
31. VOLLER, A.; BIDWELL, D. E. & BARTLETT, A. - Enzyme immunoassay in diagnostic medicine. Theory and practice. **Bull. Wld. Hlth. Org.**, 55:55-65, 1976.

Recebido para publicação em 24/03/1993.

Aceito para publicação em 14/09/1993.